

مقاله پژوهشی

دوپامین اثرات تحرکی کیس پپتین بر غلظت سرمی هورمون LH را در موش‌های صحرایی نر کاهش می‌دهد

فاطمه خسروی^۱، همایون خزعلی^{۱*}، فریبا محمودی^۲، وحید عزیزی^۱

۱. گروه فیزیولوژی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران
۲. گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل

پذیرش: ۱ آبان ۹۵

دریافت: ۶ مرداد ۹۵

چکیده

مقدمه: دوپامین فعالیت محور هیپوتالاموس - هیپوفیز - گناداها (HPG) را مهار می‌کند. مسیر پیام‌رسانی کیس پپتین /GPR54 سبب افزایش آزادسازی GnRH/LH و تستوسترون می‌گردد. در این تحقیق اثرات برهم‌کنش دوپامین و کیس پپتین بر میانگین غلظت سرمی هورمون LH در موش‌های صحرایی بررسی شد.
روش‌ها: چهل و پنج موش صحرایی نر نژاد ویستار به وزن ۲۵۰-۲۳۰ g در ۹ گروه ۵ تایی به ترتیب سالین، کیس پپتین (۰/۱، ۱ nmol) یا پپتید ۲۳۴ (۱ nmol)، دوپامین هیدروکلراید (۲ یا ۵ μg/kg)، تزریق همزمان کیس پپتین و پپتید ۲۳۴، دوپامین و کیس پپتین یا دوپامین و پپتید ۲۳۴ را از طریق بطن سوم مغزی دریافت کردند. نمونه‌های خونی در یک ساعت بعد از تزریق جمع‌آوری شدند. میانگین غلظت سرمی LH با روش رادیوایمنواسی تعیین شد.
یافته‌ها: کیس پپتین سبب افزایش معنی‌دار غلظت سرمی LH و دوپامین سبب کاهش معنی‌دار آن در مقایسه با سالین شد. پپتید ۲۳۴ اثرات تحرکی کیس پپتین بر ترشح LH را مهار کرد. میانگین غلظت سرمی LH با تزریق همزمان دوپامین و کیس پپتین در مقایسه با کیس پپتین کاهش معنی‌دار و در مقایسه با تزریق دوپامین افزایش معنی‌داری نشان داد. تزریق همزمان دوپامین و پپتید ۲۳۴ غلظت سرمی LH را در مقایسه با کیس پپتین یا تزریق همزمان کیس پپتین و دوپامین به طور معنی‌داری کاهش داد.
نتیجه‌گیری: دوپامین اثرات مهاری بر فعالیت مسیر پیام‌رسانی کیس پپتین در سطح هیپوتالاموسی اعمال کرده و بدین وسیله اثرات تحرکی کیس پپتین بر فعالیت محور تولیدمثلی را کاهش می‌دهد.

واژه‌های کلیدی: پپتید ۲۳۴، دوپامین، کیس پپتین، هورمون LH

مقدمه

جوندگان و نشخوارکنندگان نشان می‌دهند که آزادسازی پالسی تونیک هورمون GnRH و گنادوتروپین‌ها در جنس نر و ماده تحت کنترل نورون‌های GnRH واقع در هسته قوسی (ARC) در ناحیه هیپوتالاموس میانی جانبی (MBH) می‌باشد [۱].

کیس پپتین، نوروپپتید ۵۴ اسیدآمینوای در انسان (۵۲ اسیدآمینوای در موش صحرایی) است که از طریق اتصال به گیرنده GPR54 سبب تحریک فعالیت محور HPG می‌شود. نشان داده شده است که نورون‌های کیس پپتین به طور

در سال‌های اخیر، مطالعه نقش مسیر پیام‌رسانی کیس پپتین بر فعالیت محور هیپوتالاموس - هیپوفیز - گنادا (HPG) بسیار مورد توجه محققان بوده است. مطالعات تخریب الکترولیتیکی، تحریک الکتریکی، کاشت هورمونی و قطع آوران‌های وارده به هسته‌های هیپوتالاموسی در پریمات‌ها،

khazali@yahoo.com

* نویسنده مسئول مکاتبات:

http://ijpp.phypha.ir

وبگاه مجله:

ijpp@phypha.ir

پست الکترونیکی:

فعالیت محور تولیدمثلی در فصول غیر تولیدمثلی ایفا می‌کند [۹]. در موش‌ها نشان داده شده است که جمعیتی از نوروں‌های کیس‌پتین واقع در نواحی دور بطنی در اطراف بطن سوم آنزیم تیروزین هیدروکسیلاز را بیان می‌کنند و آکسون این نوروں‌ها در نزدیکی جسم سلولی و دندریت‌های نوروں‌های GnRH قرار گرفته‌اند [۶]. نتایج این یافته نشان می‌دهد که آکسون گروهی از نوروں‌های کیس‌پتین که دوپامین را سنتز می‌کنند بر روی نوروں‌های GnRH ارسال می‌شوند [۶]. با توجه به این که کیس‌پتین و دوپامین هر دو از تنظیم‌کننده‌های مهم فعالیت محور HPG هستند در این تحقیق برای اولین بار اثرات تزریق همزمان کیس‌پتین و دوپامین بر میانگین غلظت سرمی هورمون LH در موش‌های صحرایی نر بررسی شد.

مواد و روش‌ها

در این پژوهش ۴۵ موش صحرایی نر بالغ، از نژاد ویستار (تهیه شده از مرکز تحقیقات علوم اعصاب دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی) به وزن ۲۳۰ الی ۲۵۰ گرم که در شرایط استاندارد (دمای 22 ± 2 °C و چرخه ۱۲ ساعت روشنایی/تاریکی با شروع روشنایی در ساعت ۷ صبح) نگهداری می‌شدند برای آزمایش انتخاب شدند. حیوانات در تمام مدت آزمایش دسترسی آزاد به آب و غذا داشتند. موش‌ها تحت عمل کانول‌گذاری داخل بطنی قرار گرفتند. عمل جراحی تحت بیهوشی با تزریق داخل صفاقی مخلوطی از کتامین (80 mg/kg BW) و زایلازین (10 mg/kg BW) انجام شد. کانول ساخته شده از سرسنگ تزریقی شماره ۲۲ با استفاده از دستگاه استرئوتاکسیک (Stoelting Co, USA) و با کمک سه عدد پیچ عینک و سیمان دندانپزشکی (شرکت مارلیک، ایران) در سطح جمجمه تثبیت شد. بر اساس اطلس واتسون و پاکسینوس، نوک کانول در مختصات بطن سوم ($AP = -2.3$, $ML = 0.0$, $DV = 6.5$) قرار گرفت. حیوانات بعد از جراحی به قفسهای انفرادی برگردانده شدند و به آنها یک هفته اجازه بهبودی داده شد. بعد از یک هفته دوره بهبودی ۴۵ موش صحرایی نر در ۹ گروه (در هر گروه ۵ موش) به صورت تصادفی قرار گرفتند. حیوانات به ترتیب سالین، مقادیر ۰/۱ یا ۱ نانومول کیس‌پتین ۱۰ پپتید ۲۳۴ (AnaSpec Co, USA) 1 nmol پپتید ۲۳۴

مستقیم نوروں‌های GnRH را عصب‌دهی می‌کنند و ۸۵٪ نوروں‌های GnRH در موش صحرایی گیرنده GPR54 را بیان می‌کنند [۲]. نوروں‌های کیس‌پتین در هسته ARC هیپوتالاموس در کنترل آزادسازی پالسی تونیک GnRH/LH در هر دو جنس نر و ماده و نوروں‌های بیان‌کننده آن در هسته شکمی - قدامی دور بطنی (AVPV) در کنترل آزادسازی فازیک GnRH/LH در جنس ماده نقش مهمی ایفا می‌کنند و ایجاد جهش در ژن کیس‌پتین یا گیرنده آن سبب ایجاد ناباروری و هیپوگنادیسم هیپوگنادوتروپیک می‌شود [۳]. همچنین مطالعات متعدد نشان داده است که تزریق مرکزی و محیطی کیس‌پتین اثرات تحریکی بر آزادسازی GnRH/LH و هورمون‌های جنسی اعمال می‌کند [۴] و تزریق آنتاگونیست گیرنده GPR54 به نام پپتید ۲۳۴ اثرات تحریکی کیس‌پتین بر آزادسازی GnRH/LH را به طور کامل مهار می‌کند [۵].

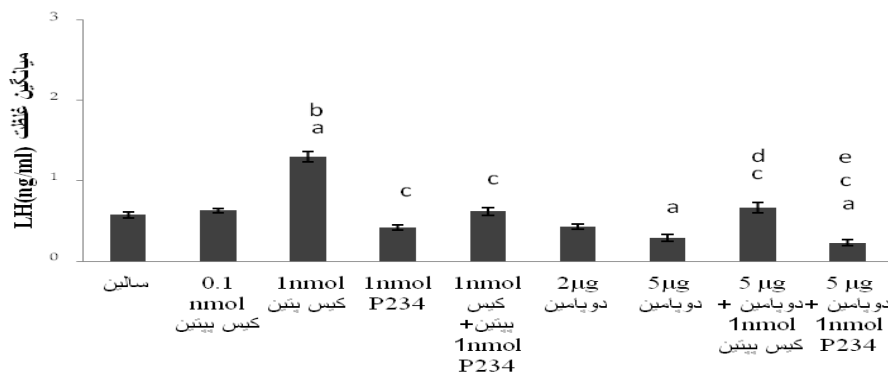
دوپامین یکی از مهم‌ترین نوروترانسمیترهای مغزی است که از اسید آمینه تیروزین ساخته می‌شود. هنگام تزریق محیطی، دوپامین به علت عدم توانایی عبور از سد خونی-مغزی نمی‌تواند مستقیماً بر روی دستگاه عصبی مرکزی اثر بگذارد در حالی که پیش‌سازهای دوپامین (تیروزین یا ال-دوپا) توانایی عبور از سد خونی مغزی را دارند [۶]. نوروں‌های دوپامینرژیک در ۱۷ گروه مختلف A1-A17 در نواحی مختلف مغز قرار گرفته‌اند و اثرات فیزیولوژیکی دوپامین بر فرایندهای فیزیولوژیکی مختلف از طریق دو گروه گیرنده D1-like (D1 and D5) و D2-like (D2, D3, and D4) اعمال می‌گردد [۷]. جسم سلولی نوروں‌های دوپامینرژیک در هیپوتالاموس در هسته‌های دور بطنی (A11) و قوسی (A12) قرار گرفته‌اند [۷]. مطالعات پیشین نشان داده‌اند هر دو گروه گیرنده D1-Like و D2-like دوپامین بر روی ۵۰٪ نوروں‌های GnRH بیان می‌شود و دوپامین و آگونیست‌های دوپامین از طریق هر دو گروه گیرنده سبب مهار مستقیم فعالیت هیپوتالاموس - هیپوفیز - گنادها می‌گردند [۷، ۸]. همچنین مطالعات پیشین نشان داده‌اند که دوپامین از طریق مسیرهای واسطه‌ای نظیر مسیرهای گلوتامات و گاما آمینوبوتیریک اسید (GABA) به طور غیرمستقیم در مهار فعالیت نوروں‌های GnRH دخالت دارد [۷]. در سال‌های اخیر، در نشخوارکنندگان نشان داده شده است که اثرات مهاری دوپامین از طریق کاهش فعالیت نوروں‌های کیس‌پتین نقش مهمی در کنترل خاموشی

از نرم افزار Excell 2007 رسم شدند. کلیه اصول اخلاقی مطابق با اصول کار با حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی انجام شد.

نتایج

میانگین غلظت هورمون LH در گروه دریافت کننده ۰/۱ nmol کیس پیتین در مقایسه با تزریق سالین به میزان ۰/۰۹ برابر افزایش یافت که این میزان افزایش از نظر آماری معنی دار نبود (نمودار ۱). در حالی که تزریق ۱ nmol کیس پیتین میانگین غلظت LH را در مقایسه با گروه سالین یا گروه دریافت کننده ۰/۱ nmol کیس پیتین به ترتیب به میزان ۱/۲۴ و ۱/۰۶ برابر افزایش داد که این میزان افزایش در مقایسه با هر دو گروه از نظر آماری معنی دار بود ($p < ۰/۰۵$). میانگین غلظت هورمون LH با تزریق پیتید ۲۳۴ مقایسه با گروه‌های سالین به میزان ۰/۲۷ کاهش یافت که این میزان کاهش در مقایسه با گروه سالین از نظر آماری معنی دار نبود. تزریق همزمان کیس پیتین و پیتید ۲۳۴ میانگین غلظت LH را در مقایسه با تزریق کیس پیتین به میزان ۰/۵۲ برابر کاهش داد که این میزان کاهش از نظر آماری معنی دار بود ($p < ۰/۰۵$). به عبارت دیگر تزریق پیتید ۲۳۴ اثرات تحریکی کیس پیتین بر میانگین غلظت LH را بلوکه کرد ($p < ۰/۰۵$). میانگین غلظت LH با تزریق مقادیر ۲ یا ۵ میکروگرم دوپامین هیدروکلراید به ترتیب به میزان ۰/۲۵ و ۰/۵ برابر در مقایسه با گروه سالین کاهش یافت که

(Phoenix Pharmaceutical Co, USA)، مقادیر ۲ یا ۵ میکروگرم دوپامین هیدروکلراید (Sigma Co, USA)، تزریق همزمان کیس پیتین (۱ nmol) و پیتید ۲۳۴ (۱ nmol)، دوپامین (۵ میکروگرم) و کیس پیتین (۱ nmol) یا دوپامین (۵ میکروگرم) و پیتید ۲۳۴ (۱ nmol) را در حجم ۳ μ l در مدت یک دقیقه یا در حجم ۱/۵ میکرولیتر در مدت ۳۰ ثانیه (در گروه‌های تزریق همزمان) با استفاده از سرسرنگ دندانپزشکی ۲۷ gauge که از طریق لوله رابط پلی اتیلنی به سرنگ هامیلتون ۵ μ l وصل شده بود از طریق بطن سوم مغزی (ICV) در بازه زمانی ۹:۳۰-۹:۰۰ دریافت کردند. در این تحقیق زمان خونگیری و مقادیر دوپامین [۸]، کیس پیتین و پیتید ۲۳۴ [۴، ۵] بر اساس مطالعات پیشین انتخاب شد. نمونه‌های خونی یک ساعت بعد از تزریق با بریدن سر حیوانات جمع‌آوری شد. نمونه‌های سرمی با استفاده از دستگاه سانتریفوژ به مدت ۱۵ دقیقه با دور ۳۰۰۰ rpm جدا شده و در دمای $^{\circ}C -20$ تا زمان تعیین غلظت هورمون LH نگهداری شدند. میانگین غلظت سرمی LH با استفاده از کیت سنجش ویژه LH موش صحرایی (Institute of Isotopes Co, LTD, Hungary) با استفاده از روش RIA رادیوایمنواسی تعیین گردید. حساسیت کیت LH برابر با ۰/۰۹ ng /tube و درون آزمونی و برون آزمونی به ترتیب برابر ۸/۵٪ و ۶٪ بود. داده‌ها با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه آنالیز شدند و مقایسه میانگین داده‌ها با پست آزمون توکی و با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۱۶ بررسی شد. در تمام آنالیزهای آماری نتایج با $p < ۰/۰۵$ معنی دار گزارش گردید و نمودارها با استفاده



نمودار ۱- میانگین غلظت سرمی هورمون LH در موش‌های صحرایی دریافت کننده کیس پیتین ۱۰، پیتید ۲۳۴، دوپامین هیدروکلراید، تزریق همزمان کیس پیتین و پیتید ۲۳۴، تزریق همزمان کیس پیتین و دوپامین هیدروکلراید یا تزریق همزمان پیتید ۲۳۴ و دوپامین هیدروکلراید. نتایج به صورت میانگین \pm SEM ارائه شده‌اند. در هر گروه $n = 5$ و $p < ۰/۰۵$ از نظر آماری معنی دار گزارش شده است. در مقایسه با a: سالین، b: ۰/۱ nmol کیس پیتین، c: ۱ nmol کیس پیتین، d: ۵ میکروگرم دوپامین و e: تزریق همزمان دوپامین و کیس پیتین.

مطالعات متعدد انجام شده در شرایط *in vitro* و *in vivo*، مطالعات الکتروفیزیولوژیکی و بررسی‌کننده بیان ژن c-fos به عنوان مارکری از فعالیت عصبی نورون‌های GnRH تاکید می‌کنند که کیس‌پتین فعالیت محور نورواندوکرینی تولیدمثل را از طریق مکانیسم وابسته به GnRH تحت تاثیر قرار می‌دهد [۲] و با تزریق آنتاگونیست‌های GnRH اثرات تحرکی کیس‌پتین بر آزادسازی LH به طور کامل از بین می‌رود [۵].

همچنین نتایج حاصل از آنالیز داده‌ها نشان داد که تزریق داخل بطن سوم مغزی دوپامین هیدروکلراید میانگین غلظت سرمی LH را در یک ساعت بعد از تزریق در مقایسه با گروه سالیین به طور معنی‌داری کاهش داد. یافته‌های حاصل از این تحقیق منطبق بر یافته‌های پیشین است که و تزریق داخل مغزی دوپامین و آگونیست‌های دوپامین اثرات مهاری بر آزادسازی GnRH/LH و هورمون‌های جنسی اعمال می‌کنند [۷] و میزان تخلیه یک سوم نورون‌های GnRH بعد از تزریق آنتاگونیست‌های هر دو گروه گیرنده D1-Like و D2-like دوپامین افزایش می‌یابد [۷].

نتایج حاصل نشان داد که میانگین غلظت سرمی LH با تزریق همزمان دوپامین و کیس‌پتین در مقایسه با کیس‌پتین کاهش معنی‌دار و در مقایسه با تزریق دوپامین افزایش معنی‌داری نشان داد. همچنین تزریق همزمان دوپامین و پیتید ۲۳۴ میانگین غلظت سرمی LH را در مقایسه کیس‌پتین یا تزریق همزمان کیس‌پتین و دوپامین به طور معنی‌داری کاهش داد.

در سال ۲۰۱۲، محققان گزارش کردند که در گوسفند نورون‌های دوپامین‌ژئیک از ناحیه رتروکیاسمای مغزی به هسته ARC هیپوتالاموس ارسال شده است. در فصل غیر تولید مثلی این نورون‌های دوپامین‌ژئیک فعال بوده و در میانجیگری اثرات فیدبک منفی استروئیدهای جنسی بر فعالیت محور تولیدمثلی نقش دارند در حالی که در فصل تولیدمثلی این نورون‌ها غیرفعال هستند. آنها گزارش دادند که این نورون‌های دوپامین‌ژئیک بر روی گروهی از نورون‌های کیس‌پتین در هسته ARC به نام نورون‌های کیس‌پتین-نوروکینین-دینورفین موسوم به نورون‌های KNDy ارسال شده‌اند و فعالیت نورون‌های کیس‌پتین را مهار می‌کنند و بدین ترتیب سبب خاموشی فعالیت محور تولیدمثلی در فصول غیر تولیدمثلی گوسفندان می‌شوند [۹]. آن‌ها برای اثبات نتایج خود با تزریق

این میزان کاهش تنها در گروه دریافت‌کننده ۵ میکروگرم دوپامین هیدروکلراید در مقایسه با گروه سالیین از نظر آماری معنی‌دار بود. میانگین غلظت هورمون LH در گروه دریافت‌کننده تزریق همزمان ۱ nmol کیس‌پتین و ۵ میکروگرم دوپامین در مقایسه با تزریق سالیین یا گروه ۵ میکروگرم دوپامین به ترتیب به میزان ۰/۱۵ یا ۰/۴۸ برابر افزایش یافت که این میزان افزایش تنها در مقایسه با گروه ۵ میکروگرم دوپامین از نظر آماری معنی‌دار بود ($p < 0/05$) نمودار ۱). میانگین غلظت هورمون LH در گروه دریافت‌کننده تزریق همزمان ۱ nmol کیس‌پتین و ۵ میکروگرم دوپامین در مقایسه با گروه ۱ nmol کیس‌پتین به میزان ۱/۳۱ برابر کاهش یافت که این میزان کاهش از نظر آماری معنی‌دار بود ($p < 0/05$) نمودار ۱). میانگین غلظت هورمون LH در گروه دریافت‌کننده تزریق همزمان ۱ nmol پیتید ۲۳۴ و ۵ میکروگرم دوپامین در مقایسه با تزریق سالیین، ۱ nmol کیس‌پتین، پیتید ۲۳۴، گروه ۵ میکروگرم دوپامین یا تزریق همزمان کیس-پتین و دوپامین به ترتیب به میزان ۰/۶، ۰/۸۲، ۰/۴، ۰/۲۱ یا ۰/۶۶ برابر کاهش یافت که این میزان کاهش در مقایسه با گروه سالیین، کیس‌پتین یا تزریق همزمان کیس‌پتین و دوپامین از نظر آماری معنی‌دار بود ($p < 0/05$) نمودار ۱).

بحث

نتایج حاصل نشان داد که تزریق ۱ nmol کیس‌پتین سبب افزایش معنی‌دار میانگین غلظت پلاسمایی LH در یک ساعت بعد از تزریق در مقایسه با سالیین شد و تزریق مرکزی ۱ nmol پیتید ۲۳۴ اثرات تحرکی کیس‌پتین بر ترشح این هورمون را بلوکه کرد. نتایج حاصل از تزریق کیس‌پتین بر ترشح LH در این تحقیق منطبق بر یافته‌های تحقیقات پیشین است که اثرات تحرکی کیس‌پتین بر آزادسازی GnRH/LH و هورمون‌های استروئیدی را در گونه‌های مختلف جانوری گزارش کرده‌اند [۵-۹]. در سال‌های اخیر، اکثر تحقیقات در زمینه فعالیت محور HPG بر مسیر کیس‌پتین/GPR54 متمرکز شده‌اند که در بالادست نورون‌های GnRH عمل می‌کنند. ثابت شده است که یک ارتباط آناتومیکی قوی بین ۷۰-۹۰ درصد نورون‌های کیس‌پتین و GnRH وجود داشته و بیش از ۸۵ درصد نورون‌های GnRH در پایانه آکسونی خود در ناحیه برجستگی میانی گیرنده GPR54 را بیان می‌کنند [۲].

آنتاگونیست دوپامین به هسته ARC نشان دادند که آزادسازی GnRH/LH افزایش یافت در حالی که با تزریق آنتاگونیست گیرنده کیس‌پیتین وقتی مسیر پیام‌رسانی کیس‌پیتین/GPR54 بلوکه شد تزریق آنتاگونیست دوپامین سبب افزایش آزادسازی GnRH/LH نگردید [۹]. همچنین تحقیقات پیشین در موش‌های صحرایی نشان دادند که آکسون‌های نورون‌های کیس‌پیتین با تراکم بالایی در قسمت پشتی هسته ARC متمرکز شده‌اند و این آکسون‌ها در مجاورت نزدیک نورون‌های GnRH و نورون‌های دوپامین‌ژئیکی توبرواینفونددیولار هستند [۶]. به طور کلی این یافته‌ها نشان‌دهنده ارتباط بین مسیر پیام‌رسانی کیس‌پیتین و مسیر پیام‌رسانی دوپامین‌ژئیکی می‌باشند. در این تحقیق برای اولین بار اثرات برهم‌کنش کیس‌پیتین و دوپامین بر میانگین غلظت سرمی LH در موش‌های صحرایی نر بررسی شد. نتایج نشان دادند که با تزریق داخل بطن سوم مغزی دوپامین اثرات تحریکی کیس‌پیتین بر ترشح هورمون‌های LH کاهش یافت. هر چند در این تحقیق برای اولین بار اثرات برهم‌کنش دوپامین و کیس‌پیتین بر ترشح هورمون LH در جوندگان بررسی شده است و نمی‌توان نتایج حاصل را با یافته‌های پیشین مقایسه کرد ولی چند مکانیسم احتمالی را می‌توان در میانجیگری اثرات مهاری دوپامین بر اثرات کیس‌پیتین فرض کرد. در واقع حضور گیرنده‌های دوپامین تقریباً در ۵۰ درصد نورون‌های GnRH و بیش از ۸۰ درصد نورون‌های KNDy کیس‌پیتین هسته ARC حاکی از مهار مستقیم و غیر مستقیم نورون‌های GnRH توسط ورودی‌های دوپامین‌ژئیکی است [۹]. از آنجا که تمام نورون‌های کیس‌پیتین هسته ARC که در تنظیم آزادسازی تونیک GnRH/LH دخالت دارند از نوع KNDy نیستند بنابراین احتمال دارد دوپامین علاوه بر تاثیر مستقیم بر روی نورون‌های KNDy از طریق مسیرهای واسطه‌ای داخل هیپوتالاموسی نیز در تنظیم اثرات کیس‌پیتین بر ترشح GnRH/LH دخالت داشته باشد.

گرلین پپتید ۲۸ اسیدآمینه‌ای و لیگاند آندوژن برای گیرنده سکروتاگوگ هورمون رشد (GHSR-1a) است که به طور عمده در معده و هسته ARC هیپوتالاموس بیان می‌شود و گرسنگی بیان آن را در هر دو جایگاه افزایش می‌دهد [۱۰]. همپوشانی مکانی نورون‌های گرلین، GnRH و نورون‌های دوپامین این احتمال را ایجاد می‌کند که برهم‌کنش گرلین و

دوپامین در تنظیم فعالیت محور HPG نقش مهمی ایفا کند. نشان داده شده است که تزریق محیطی و مرکزی گرلین فعالیت محور HPG را مهار می‌کند و سبب ایجاد تاخیر در بلوغ جنسی می‌شود [۱۰]. تحقیقات مختلف گزارش کردند که به دنبال محرومیت غذایی که همراه با افزایش بیان و میانگین غلظت پلاسمایی گرلین همراه است یا تزریق آگزوژن گرلین میزان بیان ژن KiSS1 کاهش می‌یابد [۱۱]. از طرفی در محیط *in vitro* نشان داده شده است که دوپامین سبب افزایش ترشح گرلین می‌گردد [۱۲]. بر اساس این یافته‌ها ممکن است مسیر دوپامین‌ژئیکی طریق مسیر گرلین و کیس‌پیتین در تنظیم آزادسازی GnRH/LH نقش داشته باشد. گالانین نوروپپتید ۶۰ اسیدآمینه‌ای است که تزریق داخل بطنی مغزی آن آزادسازی GnRH/LH را از هیپوتالاموس افزایش می‌دهد [۱۳]. گزارش شده است که تزریق دوپامین سبب کاهش ترشح گالانین و همچنین کاهش بیان ژن گالانین در جوندگان می‌شود [۱۴]. از طرفی کالو و همکارانش در سال ۲۰۱۲ گزارش کردند که گالانین و کیس‌پیتین در برخی از نورون‌های کیس‌پیتین واقع در هسته ARC هم‌مکانی دارند. بدین معنی که این دسته از نورون‌های کیس‌پیتین علاوه بر کیس‌پیتین، گالانین را نیز سنتز و آزاد می‌کنند [۱۵]. بنابراین کاهش ترشح گالانین توسط دوپامین ممکن است یکی دیگر از مکانیسم‌های احتمالی غیر مستقیم دخیل در کاهش اثرات تحریکی کیس‌پیتین بر ترشح هورمون‌های LH و تستوسترون باشد. البته، در این تحقیق نقش همپوشانی عملکرد مسیرهای عصبی گرلین یا گالانین در میانجیگری اثرات مهاری دوپامین بر کاهش اثرات تحریکی کیس‌پیتین بر ترشح LH در حد یک فرضیه مطرح شد و برای ارائه مکانیسم‌های دقیق‌تر امید است طی تحقیقات آینده بررسی اثرات مقادیر مختلف دوپامین، آنتاگونیست‌های دوپامین، تزریق همزمان دوپامین و گرلین یا دوپامین و گالانین بر میانگین غلظت پلاسمایی کیس‌پیتین و بیان ژن کیس‌پیتین صورت گیرد تا با اطلاعات دقیق‌تری بتوان درباره اثرات برهم‌کنش کیس‌پیتین و دوپامین و مکانیسم اثرات دوپامین بر مسیر پیام‌رسانی کیس‌پیتین و در نتیجه میزان ترشح هورمون LH و هورمون‌های جنسی در جوندگان صحبت کرد.

نتیجه‌گیری

در مجموع تزریق داخل بطن سوم مغزی دوپامین سبب

تعارض در منافع

نویسندگان این مقاله تعارض در منافع ندارند.

سهیم نویسندگان

ف.خ: انجام مطالعه و نگارش مقاله؛ ه.خ: ایده، طراحی، نظارت بر حسن اجرای مطالعه و نگارش مقاله؛ ف.م: مشاوره؛ و.ع: اجرای بخشی از مطالعه.

کاهش اثرات تحریکی کیس‌پپتین بر ترشح هورمون LH در موش‌های صحرایی نر می‌شود. بر اساس یافته‌های حاصل برهم‌کنش بین مسیرهای پیام‌رسانی کیس‌پپتین و دوپامینرژیک می‌تواند در تنظیم ترشح هورمون LH نقش داشته باشد.

سپاسگزاری

این تحقیق با حمایت مالی دانشگاه شهید بهشتی به انجام رسیده است. بدین وسیله نویسندگان از حمایت مالی دانشگاه شهید بهشتی تشکر و قدردانی می‌نمایند.

فهرست منابع

- [1] Constantin S, Physiology of the GnRH neuron: Studies from embryonic GnRH neurons. *J Neuroendocrinol* 23 (2011) 542-553.
- [2] Navarro VM, Castellano JM, Fernández-Fernández R, Barreiro ML, Roa J, Sanchez-Criado JE, Aguilar E, Dieguez C, Pinilla L Tena-Sempere M, Developmental and hormonally regulated messenger ribonucleic acid expression of KiSS-1 and its putative receptor, GPR54, in rat hypothalamus and potent luteinizing hormone-releasing activity of KiSS-1 peptide. *Endocrinology* 145 (2004) 4565-4574.
- [3] de Roux N, Genin E, Carel JC, Matsuda F, Chaussain J, Milgrom E, Hypogonadotropic hypogonadism due to loss of function of the Kiss1-derived peptide receptor GPR54. *Proc Natl Acad Sci USA* 100 (2003) 10972-10976.
- [4] Thompson EL, Patterson M, Murphy KG, Smith KL, Dhillon WS, Todd JF, Ghatei MA, Bloom SR, Central and peripheral administration of kisspeptin-10 stimulates the hypothalamic-pituitary-gonadal axis. *J Neuroendocrinol* 16 (2004) 850-858.
- [5] Roseweir AK, Kauffman AS, Smith JT, Morgan K, Pielecka-Fortuna J, Pineda R, Gottsch ML, Tena-Sempere M, Moenter SM, Terasawa E, Clarke IJ, Steiner RA, Millar RP, Discovery of potent kisspeptin antagonists delineate physiological mechanisms of gonadotropin regulation. *J Neurosci* 29 (2009) 3920-3929.
- [6] Clarkson J, Herbison AE, Dual phenotype kisspeptin-dopamine neurones of the rostral periventricular area of the third ventricle project to gonadotrophin-releasing hormone neurons. *J Neuroendocrinol* 23 (2011) 293-301.
- [7] Liu X, Herbison AE, Dopamine regulation of gonadotropin-releasing hormone neuron excitability in

- male and female mice. *Endocrinology* 154 (2013) 340-350.
- [8] Hull EM, Bitran D, Pehek EA, Warner RK, Band LC, Holmes GM, Dopaminergic control of male sex behavior in rats: Effects of an intracerebrally-infused agonist. *Brain Res* 370 (1986) 73-81.
- [9] Goodman RL, Maltby MJ, Millar RP, Hileman SM, Nestor CC, Whited B, Tseng AS, Coolen LM, Lehman MN, Evidence that dopamine acts via kisspeptin to hold GnRH pulse frequency in check in anestrous ewes. *Neuroendocrinology* 153 (2012) 5918-5927.
- [10] Fernández-Fernández R1, Tena-Sempere M, Aguilar E, Pinilla L, Ghrelin effects on gonadotropin secretion in male and female rats. *Neurosci Lett* 362 (2004) 103-107.
- [11] Forbes S, Li XF, Kinsey-Jones J, O'Byrne K, Effects of ghrelin on kisspeptin mRNA expression in the hypothalamic medial preoptic area and pulsatile luteinising hormone secretion in the female rat. *Neurosci Lett* 460 (2009) 143-147.
- [12] Iwakura H, Ariyasu H, Hosoda H, Yamada G, Hosoda K, Nakao K, Kangawa K, Akamizu T, Oxytocin and dopamine stimulate ghrelin secretion by the ghrelin-producing cell line, MGN3-1 *in vitro*. *Endocrinology* 152 (2011) 2619-2625.
- [13] Pandit MA, Saxena RN, Galanin regulation of LH release in male rats. *Indian J Exp Biol* 48 (2010) 544-548.
- [14] Hyde JF, Keller BK, Howard G, Dopaminergic regulation of galanin gene expression in the rat anterior pituitary gland. *J Neuroendocrinol* 4 (1992) 449-454.
- [15] Kalló I, Vida B, Deli L, Molnár CS, Hrabovszky E, Caraty A, Ciofi P, Coen CW, Liposits Z, Co-localisation of kisspeptin with galanin or neurokinin B in afferents to mouse GnRH neurons. *J Neuroendocrinol* 24 (2012) 464-476.

Research paper

Dopamine decreases the stimulatory effects of kisspeptin on serum LH hormone concentrations in male ratsFatemeh Khosravi¹, Homayoun Khazali^{1*}, Fariba Mahmoudi², Vahid Azizi¹

1. Department of Physiology, Faculty of Biological Sciences, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran

2. Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran

Received: 27 July 2016

Accepted: 22 October 2016

Abstract

Introduction: Dopamine inhibits hypothalamus-pituitary-gonadal (HPG) axis. Kisspeptin/ GPR54 signaling pathway increases GnRH/LH release and testosterone secretion. In the present study the effects of interaction between dopamine and kisspeptin on mean serum LH concentrations in rats were investigated.

Methods: Forty-five male Wistar rats weighing 230-250g in nine groups (n = 5 in each group) received saline, kisspeptin (0.1 or 1 nmol), P234 (1nmol), dopamine (2 or 5 µg/Kg), simultaneous injection of kisspeptin and P234, dopamine and kisspeptin, or dopamine and P234, via third cerebral ventricle. Blood samples were collected 1 hour after injections. Mean serum LH concentrations were determined by radio-immuno assay (RIA).

Results: Kisspeptin significantly increased serum LH concentration while dopamine decreased LH concentration. Peptide 234 blocked the stimulatory effects of kisspeptin on LH concentration. Compared to kisspeptin, LH concentration significant decreased by kisspeptin and dopamine. However, kisspeptin and dopamine significantly increased LH concentration compared to dopamine alone. Simultaneous injections of dopamine and P234 significantly decreased LH concentration compared to kisspeptin or simultaneous injections of dopamine and kisspeptin.

Conclusion: Dopamine exerts inhibitory effects on kisspeptin signaling pathway at hypothalamic levels and thereby it decreases the stimulatory effects of kisspeptin on reproductive axis.

Keywords: Dopamine, Kisspeptin, LH hormone, Peptide234

Please cite this article as follows:

Khosravi F, Khazali H, Mahmoudi F, Azizi V, Dopamine decreases the stimulatory effects of kisspeptin on serum LH hormone concentrations in male rats. *Iran J Physiol Pharmacol* 1 (2018) 17-23.

*Corresponding author e-mail: khazali@yahoo.com

Available online at: <http://ijpp.phypha.ir>

E-mail: ijpp@phypha.ir