[Article in Persian] Physiology and Pharmacology Vol. 10, Fall 2006, 219-228

Study of the effects of Neuropeptide Y injections on plasma concentrations of Thyroxine and triiodothyronine in goat

Farid Moslemipur[1*], Homayoun Khazali[2], Mohammad Ali Emami meybodi[3]

1- Dept.Aanimal Sciences,Golestan University.
2- Dept. Biology, Shaheed Beheshti University, Tehran.
3- Jahad-Keshavarzi Research Center, Yazd.

Abstract

Introduction: Neuropeptide Y (NPY) is the most abundant peptide present in mammals' brains. The majority of NPY-producing neurons is in arcuate and paraventricular nuclei of hypothalamus which affect hypophysiotrapic factors secretion. In this study we investigated the effect of intravenous injections of various doses of NPY on thyroxine (T_4) and triiodothyronine (T_3) serum concentrations.

Methods: Sixteen adult male sannan goats were assigned to four treatment groups. Treatments were included daily injections of 0, 10, 20 and 40 μg NPY per kg body weight named C, L, M and H, respectively. The duration of experiments was 13 consecutive days divided into three intervals; pre-treatment (days 1-3), treatment (days 4-10) and post-treatment (days 11-14). Blood collections were being done throughout the experiment at 09:00 via jugular vein and injections were in treatment interval via carotid artery at 08:00. Blood samples were centrifuged and the sera were harvested and used for hormone assay via radioimmunoassay.

Results: Results showed that treatment H caused 11-fold increase in T_4 concentrations and 4-fold increase in T_3 concentrations ones versus treatment C ($P<0.001$). Treatment M also increased T_4 and T_3 significantly ($P<0.001$). The effect of treatment L on T_4 concentrations was significantly incremental ($P<0.001$) but it has no effect on T_3 concentrations ($P=0.877$). The stimulatory effect of NPY on thyroid hormones was transient because in post-treatment interval, T_4 and T_3 concentrations in treatments L, M and H tended to decline but were yet significantly higher versus treatment C.

Conclusion: Previous studies in rodents demonstrated inhibitory effect of NPY on thyroid hormones but in present study completely stimulatory and dose-dependent effects of NPY on these hormones secretion in goat were observed. thus, we suggest the stimulatory effect of NPY on thyrotrop axis in ruminants. This discrepancy can be due to different methodology and difference in neuroendocrine framework controlling thyrotrop axis of ruminants with rodents.

Key words: Neuropeptide Y, Thyroxine, Triiodothyronine, Radioimmunoassay, Goat

* Corresponding Author Email: Moslemipurf@gau.ac.ir

فیزیولوژی و فارماکولوژی
جلد ۱۰، شماره ۳، پاییز ۱۳۸۵

بررسی اثر تزریق درون‌رگی نوروپپتید Y بر غلظت پلاسمایی هورمون‌های تیروکسین و تری‌یدوتیرونین در بز

فرید مسلمی‌پور[۱*]، همایون خزعلی[۲] و محمدعلی امامی میبدی[۳]
۱- گروه علوم دامی، دانشگاه گلستان
۲- دانشگاه شهید بهشتی، دانشکده علوم، بخش ریست شناسی
۳- استادیار و عضو هیات علمی مرکز تحقیقات جهاد کشاورزی استان یزد

دریافت: مهر ۸۴ بازبینی: مهر ۸۵ پذیرش: آذر ۸۵

چکیده

مقدمه: نوروپپتید Y (NPY)، فراوان‌ترین پپتید موجود در مغز پستانداران است که نورون‌های مولد آن در هسته‌های Arcuate و Paraventricular هیپوتالاموس تجمع یافته‌اند و بر ترشح فاکتورهای هاپوفیزیوتراپیک اثرگذارند. در این تحقیق اثر تزریق درون‌رگی NPY بر غلظت هورمون‌های تیروکسین (T4) و تری‌یودوتیرونین (T3) در سرم بز بررسی گردید.

روش‌ها: شانزده بز نر سانن به چهار گروه تیماری تقسیم شدند. تیمارها شامل تزریق روزانه ۰، ۱۰، ۲۰ و ۴۰ میکروگرم NPY به ازای هر کیلوگرم وزن بدن بود که به ترتیب C، L، M و L نامیده شدند. دوره‌ی آزمایش ۱۳ روز متوالی بود که به سه مرحله تقسیم شد؛ مرحله‌ی قبل تزریق (روز ۳-۱)، تزریق (روز ۱۰-۴) و بعد تزریق (روز ۱۳-۱۱). در کل آزمایش خونگیری از رگ وداج در ساعت ۹ صبح صورت می‌گرفت ولی تزریق‌ها فقط در ساعت ۸ صبح مرحله‌ی تزریق در سرخرگ کاروتید انجام می‌شد. سرم نمونه‌های خونی جمع‌آوری و برای اندازه‌گیری غلظت هورمون به روش Radioimmunoassay استفاده شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که تیمار H باعث افزایش ۱۱ برابری در غلظت T4 و افزایش ۴ برابری در غلظت T3 نسبت به تیمار C (شاهد) شد (P< ۰/۰۰۱). تیمار M نیز غلظت T4 و T3 را به طور معنی‌داری افزایش داد (P< ۰/۰۰۱). اثر تیمار L بر غلظت T4 افزایشی و معنی‌دار بود (P< ۰/۰۰۱) ولی بر غلظت T3 اثر معنی‌داری نداشت (P= ۰/۸۷۷). اثر تحریکی NPY گذرا بود زیرا در مرحله‌ی بعد تزریق، غلظت T4 و T3 در تیمارهای L، M و H روند نزولی به خود گرفت ولی همچنان نسبت به تیمار C به طور معنی‌داری بالاتر بود.

نتیجه‌گیری: مطالعات گذشته در جوندگان، اثر مهاری NPY بر غلظت هورمون‌های تیروئیدی را نشان داده بود ولی در این تحقیق اثر کاملاً تحریکی و وابسته به دز NPY بر ترشح این هورمون‌ها در بز مشاهده شد. بنابراین ما اثر تحریکی NPY بر محور تایروتروپ در نشخوارکنندگان را پیشنهاد می‌کنیم. این مغایرت می‌تواند ناشی از متدولوژی متفاوت و یا تفاوت در عملکرد چارچوب نوروآندوکرین کنترل کننده‌ی محور تایروتروپ در نشخوارکنندگان با جوندگان باشد.

واژه‌های کلیدی: نوروپپتید Y- تیروکسین- تری‌یودوتیرونین- Radioimmunoassay – بز.

* پست الکترونیک نویسنده مسئول مکاتبات:
Moslemipurf@gau.ac.ir

مقدمه

فعالیت محور تایروتروپ تحت کنترل نورون‌های TRH در هسته‌ی Paraventricular (PVN) است که کنترل کننده‌ی ترشح Thyroid Stimulating Hormone (TSH) از هیپوفیز بوده که این نیز به نوبه‌ی خود ترشح تری‌یدوتیرونین (T_3) و تیروکسین (T_4) از غده‌ی تیروئید را کنترل می‌کند. سنتز و رهاسازی TRH در PVN به واسطه‌ی ورودی‌های مهاری یا تحریکی از داخل مغز و یا خارج مغز کنترل می‌شود. مهمترین این ورودی‌ها نوروپپتید Y (Neuropeptide Y:NPY)، Agouti Gene Related Peptide (AGRP)، α-Melanocyte Stimulating Hormone (α-MSH)، Cocaine and Amphetamine Regulated Transcript peptide (CARTp) و لپتین می‌باشد [۱۲، ۱۴، ۱۸، ۲۳، ۳۱]. NPY نوروترنسمیتری ۳۶ اسید آمینه‌ای است که در نقاط مختلف بدن یافت شده ولی تجمع نورون‌های مولد آن در هسته‌های Arcuate (ARC) و PVN هیپوتالاموس می‌باشد [۲، ۱۰، ۲۷، ۲۹]. بخشی از نورون‌های NPY در ARC مستقیم با نورون‌های TRH در PVN پروجکت می‌شوند [۳، ۲۳، ۳۰]. همچنین رسپتور NPY روی این نورون‌ها جایابی شده است [۷]. پس امکان اثر مستقیم NPY بر نورون‌های TRH وجود دارد. تزریق دورن بطن مغز (Intracerebroventricular:ICV) باعث کاهش سطح TSH و هورمون‌های تیروئیدی در رت‌های بیهوش شد [۱۶]. تزریق ICV در رت‌های با تغذیه‌ی نرمال نیز سطح mRNA مولد TRH، TSH، T_3 و T_4 را کاهش داد [۱۲]. اثر مهاری NPY بر سنتز proTRH در محیط کشت حاوی سلول‌های جنینی رت نیز مشخص شده است [۲۴]. جالب اینکه تزریق NPY به صورت ICV در موش‌های NPY Knockout نیز سطح mRNA مولد TRH در PVN را کاهش داد [۱۱]. هنگام گرسنگی و محرومیت از غذا، سطح proTRH در PVN و سطح TSH، T_4 و لپتین در گردش کاهش می‌یابد که با افزایش چشمگیر در سنتز NPY و AGRP در ARC و رهاسازی آنها در PVN همراه است [۱، ۴، ۵، ۱۲، ۱۴، ۲۳، ۲۵]. جالب اینکه حذف فارماکولوژیک ARC، اثر مهاری گرسنگی بر سنتز TRH را از بین می‌برد [11] که حاکی از نقش اساسی سیستم نورونی موجود در ARC در کنترل سطح TRH می‌باشد. رسپتورهای لپتین روی نورون‌های TRH در PVN جایابی شده‌اند و بر ترشح آنها اثر تحریکی دارد به طوری که تزریق سیستمیک لپتین، هایپوتیروئیدیسم ناشی از گرسنگی را برطرف می‌کند [۷، ۱۸، ۱۹، ۲۰]. به نظر می‌رسد بخشی از این اثر لپتین مربوط به تحریک ترشح α-MSH از ARC است زیرا حین گرسنگی سطح α-MSH کاهش یافته و تزریق ICV آن هایپوتیروئیدیسم گرسنگی را برطرف می‌کند. جالب آنکه تزریق مغزی NPY یا حذف ARC، اثر تحریکی تزریق لپتین یا α-MSH را مهار می‌کند پس احتمالاً اثر آنها به واسطه‌ی نورون‌های NPY/AGRP است [۱۲، ۱۹، ۲۲، ۲۳]. هنگام گرسنگی سطح CART در PVN کاهش یافته که اثر مهاری بر ترشح proTRH دارد [۶، ۱۳]. پایانه‌های اعصاب کته‌کولامینرژیک از مدولای مغز که به نورون‌های TRH در PVN پروجکت می‌شوند، حاوی NPY هستند. در سرما، فعال شدن این نورون‌ها باعث افزایش سطح TRH می‌شود ولی به نظر می‌رسد NPY در این پایانه‌ها نقش مهاری بر ترشح کته‌کولامین‌ها دارد [۲۳، ۲۶]. بیماران مبتلا به Non Thyroidal Illness (NIT) دچار هایپوتیروئیدیسم پایدار هستند که مشخصه‌ی آن سطح پایین T3 و proTRH در PVN است. بین محتوای mRNA مولد TRH و NPY در اینفاندیبولوم ارتباط آماری مستقیم وجود دارد و احتمالاً کاهش ورودی NPYergic به نورون‌های TRH عامل

هایپوتیروئیدیسم است و NPY نقش تحریکی بر محور دارد [۲۳، ۲۶].

NPY فراوانترین پپتید موجود در مغز پستانداران است و نقش مهمی در هومئوستازی انرژی دارد، در نتیجه بررسی نقش آن بر ترشح هورمون‌های دخیل در متابولیسم خصوصاً هورمون‌های تیروئیدی مفید می‌باشد. اغلب مطالعات صورت گرفته در جوندگان بوده در نتیجه در این تحقیق از حیوان نشخوارکننده استفاده شد. جایابی رسپتورهای NPY روی سلول‌های تایروتروف هیپوفیز و سلول‌های فولیکولار تیروئید [2]، ضرورت انجام تزریق درون‌رگی را ایجاد می‌کند. پس در این تحقیق اثر تزریق درون‌رگی NPY بر غلظت هورمون‌های T_3 و T_4 در سرم بزهای با تغذیه‌ی نرمال بررسی گردید.

مواد و روش‌ها

حیوانات: در این آزمایش از ۱۶ بز نر نژاد سانن استفاده شد که به طور تصادفی به چهار گروه تیماری تقسیم شدند. دو هفته قبل از شروع تحقیق، حیوانات به قفس‌های انفرادی منتقل شده تا به شرایط آزمایشی آداپته شوند. جیره‌ی غذایی و شرایط نوری برای همه‌ی حیوانات یکسان و بر اساس توصیه‌ی جداول استاندارد بود.

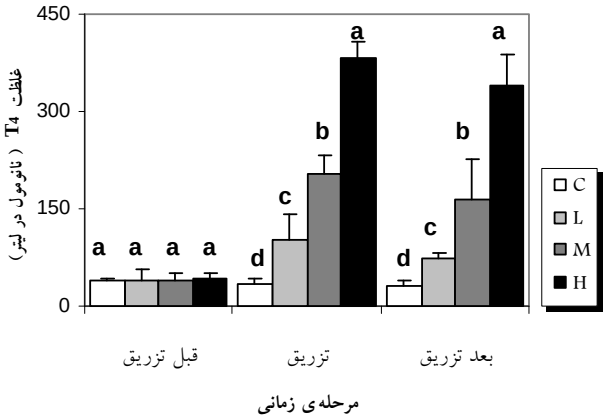
تیمارها: تیمارها شامل تزریق درون‌رگی روزانه‌ی چهار سطح ۰، ۱۰، ۲۰ و ۴۰ میکروگرم NPY سنتتیک (از شرکت سیگما) به ازای هر کیلوگرم وزن بدن حیوان بود که به ترتیب C، L، M و H نامیده شدند. اندکی قبل از تزریق، چهار محلول حاوی چهار سطح مختلف NPY در سالین برای چهار گروه تیماری تهیه می‌شد به طوری که با تزریق سه سی‌سی از این محلول‌ها دزهای مربوطه به حیوانات اعمال می‌گردید. تیمار C شامل تزریق سه سی‌سی سالین بدون NPY بود که به عنوان تیمار شاهد در نظر گرفته شد.

دوره‌ی آزمایش: کل دوره‌ی آزمایش شامل ۱۳ روز متوالی بود که به سه مرحله‌ی قبل تزریق (روزهای۳-۱)، تزریق (روزهای۱۰-۴) و مرحله‌ی بعد تزریق (روزهای ۱۳-۱۱) تقسیم گردید. در مراحل قبل تزریق و بعد تزریق صرفاً خونگیری صورت می‌گرفت ولی در مرحله‌ی تزریق، یک ساعت قبل از خونگیری، تزریق تیمارهای مختلف صورت می‌گرفت.

تزریق و خونگیری: تزریق در ساعت ۸ صبح روزهای مرحله‌ی تزریق به کمک سرنگ استریل و از طریق سرخرگ کاروتید صورت می‌گرفت. خونگیری در ساعت ۹ صبح کل ۱۳ روز به کمک ونوجکت از طریق سیاهرگ وداج انجام می‌شد.

اندازه‌گیری هورمون‌ها: نمونه‌های خونی (چهار سی‌سی) هر روز سانتریفیوژ شده و سرم آنها در ویال‌های استریل جمع‌آوری و در دمای ۲۰- سانتیگراد منجمد گردید. هورمون‌های T_4 و T_3 به کمک کیت‌های تجاری شرکت تابشیار نور به روش Radioimmunoassay اندازه‌گیری شد. ضریب تغییرات اندازه‌گیری داخلی و بیرونی (Coefficient of Variation of Intra, Inter-assay) برای T_4 به ترتیب ۹ و ۸ درصد و برای T_3 به ترتیب ۴ و ۲ درصد بود.

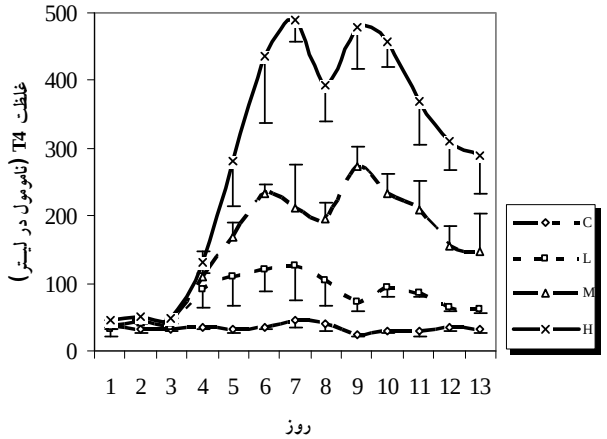
آنالیز آماری: داده‌ها از طریق روش آماری اندازه‌گیری‌های مکرر (Repeated Measures) به کمک نرم‌افزار SPSS رویه‌ی GLM آنالیز شدند. اثراتی که تست شدند شامل اثر تیمار، مرحله‌ی زمانی و اثر متقابل آنها بود. مدل آماری بدین صورت بود: $Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \alpha\beta_{ij} + \varepsilon_{j(i)} + \acute{\varepsilon}_{ijk}$. اثر تیمار ($\alpha_i$) با خطای حاصل از تکرار ($\varepsilon_{j(i)}$) تست شد و اثر مرحله‌ی زمانی (β_j) و اثر متقابل ($\alpha\beta_{ij}$) با خطای باقیمانده ($\acute{\varepsilon}_{ijk}$) تست شد. مقایسه‌ی میانگین‌ها با آزمون دانکن انجام شد و P_{value} زیر پنج صدم معنی‌دار در نظر گرفته شد.



نمودار ۱- مقایسه‌ی میانگین غلظت T4 در تیمارهای مختلف در سه مرحله‌ی زمانی
- مقایسه بین تیمارها در هر مرحله‌ی زمانی صورت گرفته و تیمارهایی دارای حروف غیرمشابه، تفاوت معنی‌دار دارند.
- میانگین روزانه به صورت Mean ± S.E. ارایه شده است.
- P value کمتر از ۰/۰۵ از لحاظ آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

نتایج نشان داد که اثر تیمار، مرحله‌ی زمانی و اثر متقابل در کل دوره (۱۳ روز) بر غلظت T_4 و T_3 کاملاً معنی‌دار بودند (در همه‌ی موارد $P<0/001$) پس با توجه به معنی‌دار بودن اثر متقابل، اثر تیمارهای مختلف در هر مرحله‌ی زمانی با یکدیگر مقایسه شدند. نتایج اندازه‌گیری T_4 نشان داد که تیمار H در مرحله‌ی تزریق اثر افزایشی کاملاً معنی‌داری نسبت به تیمار C داشت ($P<0/001$) که میانگین آنها به ترتیب ۲۷/۱± ۳۸۱/۰۹ و ۶/۵۱± ۳۴/۶۸ نانومول در لیتر بود. تیمارهای L و M نیز در این مرحله تفاوت کاملاً معنی‌داری نسبت به تیمار C ایجاد کردند (در هر دو $P<0/001$). بین اثر تیمارهای L، M و H با یکدیگر نیز تفاوت معنی‌دار وجود داشت که حاکی از وابسته به دز بودن اثر افزایشی NPY بر غلظت T_4 بود (نمودار ۱). با قطع تزریق و شروع مرحله‌ی بعد تزریق، غلظت T_4 روند نزولی به خود گرفت که بیانگر گذرا بدون اثر NPY بود ولی همچنان بین گروه‌های تیماری L، M و H با گروه C تفاوت معنی‌دار وجود داشت (نمودار ۲). نتایج اندازه‌گیری T_3 تقریباً مشابه با T_4 بود با این

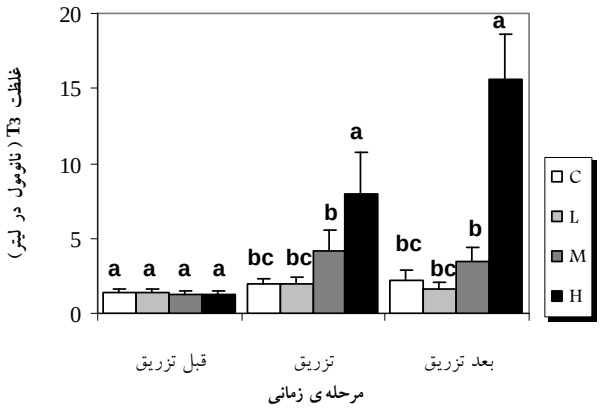


نمودار ۲- روند تغییرات میانگین غلظت T4 در کل آزمایش
- تیمارهای حاوی NPY اثر افزایشی چشمگیر و گذرایی نسبت به تیمار شاهد ایجاد کردند.

تفاوت که تیمار L نتوانست در مرحله‌ی تزریق تفاوت معنی‌داری نسبت به تیمار C ایجاد کند ($P=0/887$). تیمار H در مرحله‌ی تزریق، تفاوت کاملاً معنی‌داری در غلظت T_3 نسبت به تیمار C ایجاد کرد ($P<0/001$) که میانگین آنها به ترتیب ۰/۷± ۸/۰۳ و ۰/۴± ۱/۹۱ نانومول در لیتر بود (نمودار ۳). اثر تیمار M نیز در این مرحله کاملاً معنی‌دار بود ($P<0/001$). در مرحله‌ی بعد تزریق، غلظت T_3 در گروه‌های تیماری H و M روند کاهشی داشت (نمودار ۴). نکته‌ی قابل توجه، بالا بودن و معنی‌دار بودن غلظت T_4 و T_3 در تیمارهای H و M نسبت به تیمار C در مرحله‌ی بعد تزریق و نسبت به سطح اولیه‌شان در مرحله‌ی قبل تزریق بود که احتمالاً ناشی از اثر افزایشی قوی این تیمارها و نیمه‌عمر چند روزه‌ی هورمون‌های تیروئیدی بوده است. عدم وجود تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های تیماری در مرحله‌ی قبل تزریق، بیانگر یکنواختی بین حیوانات آزمایشی در غلظت هورمون‌های تیروئیدی بود.

بحث

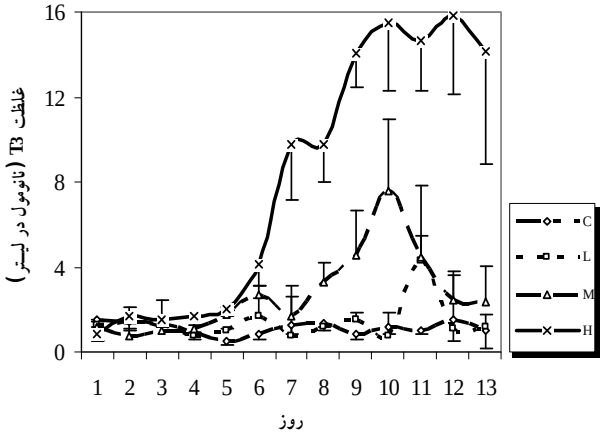
بیشتر مطالعات درباره‌ی اثر NPY بر محور تایروتروپ مربوط به جوندگان می‌شود. رت‌های محروم از غذا، نمونه‌های آزمایشی مناسبی برای بررسی عوامل دخیل در هایپوتیروئیدیسم ناشی از



نمودار ۳- مقایسه‌ی میانگین غلظت T3 در تیمارهای مختلف در سه مرحله‌ی زمانی
- مقایسه بین تیمارها در هر مرحله‌ی زمانی صورت گرفته و تیمارهایی دارای حروف غیرمشابه، تفاوت معنی‌دار دارند.
- میانگین روزانه به صورت Mean ± S.E. ارایه شده است.
- P value کمتر از ۰/۰۵ از لحاظ آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد.

گرسنگی می‌باشند. در هنگام گرسنگی فعالیت محور تایروتروپ کاهش می‌یابد که مشخصه‌ی آن کاهش سطح TRH در PVN و TSH و T_4 در گردش خون می‌باشد. جالب اینکه نقطه‌ی تنظیمی هورمون‌های تیروئیدی بر TSH و TRH نیز تغییر می‌کند و به رغم پایین بودن سطح آنها، سطح TSH و TRH افزایش نمی‌یابد. در این حین محتوای NPY در ARC و PVN افزایش می‌یابد که موازی با کاهش سطح لپتین در گردش است. این دو تغییر، محرک‌های قوی برای افزایش اشتها می‌باشد. سطح AGRP، دیگر پپتید محرک اشتها، که با NPY در برخی نورون‌های ARC قرین است نیز افزایش می‌یابد. تغییرات یادشده منجر به افزایش مصرف خوراک، کاهش تولید گرما، کاهش نرخ متابولیک، کاهش فعالیت اعصاب سمپاتتیک و کاهش فعالیت محورهای ایمنی و تولیدمثلی شده که در نهایت باعث حفظ انرژی در بدن می‌شود [۱، ۴، ۵، ۱۲، ۱۴، ۲۳، ۲۵].

نورون‌های NPY/AGRP با نورون‌های TRH در PVN ارتباط مستقیم دارند و رسپتور Y1 نیز روی نورون‌های TRH جایابی شده است. مطالعات نشان داد که اغلب سیناپس‌های نورون‌های NPY/AGRP با نورون‌های TRH متقارن است و از آنجایی که سیناپس‌های متقارن عمدتاً اثر پس‌سیناپسی



نمودار ۴- روند تغییرات میانگین غلظت T3 در کل آزمایش
- تیمارهای H و M اثر افزایشی چشمگیر و گذرایی نسبت به تیمار شاهد ایجاد کردند ولی اثر افزایشی تیمار L ضعیف و غیرمعنی‌دار بود.

مهاری دارند، نقش مهاری برای ورودی NPY/AGRP-ergic مفروض بود [۳، ۷، ۲۲، ۲۳، ۳۰]. اولین مطالعه درباره‌ی نقش NPY بر محور تایروتروپ توسط Harfstrand و همکاران صورت گرفت که در آن تزریق NPY به صورت ICV به موش‌های بیهوش، باعث کاهش معنی‌دار در غلظت TSH و هورمون‌های تیروئیدی شد. از آنجایی که در حالت بیهوشی حیوانات آب و غذایی مصرف نکردند، در نتیجه اثر مهاری NPY بر محور تایروتروپ ناشی از تغذیه نبوده و یک اثر اولیه است [۱۶]. مطالعات در رت‌های با تغذیه‌ی نرمال نشان داد که تزریق NPY یا تزریق AGRP به صورت ICV به مدت سه روز، باعث کاهش شدید در محتوای mRNA مولد TRH در PVN همچنین سطوح TSH، T_3 و T_4 در گردش شد ه است. این در حالی بود که در هر دو مطالعه همه‌ی حیوانات در یک سطح مشخص و یکسان تغذیه شده بودند [۱۲، ۱۴]. مطالعه‌ی *In Vitro* در محیط کشت سلول‌های هیپوتالاموسی جنینی نشان داد که NPY اثر مهاری بر سنتز proTRH دارد که احتمالاً با جلوگیری از فسفریله شدن پروتئین متصل به عنصر پاسخ cAMP در نورون‌های TRH می‌باشد [۲۴].

عصب‌دهی NPYergic به نورون‌های TRH در PVN حداقل از دو ناحیه‌ی مغز مشخص شده است. ARC ناحیه‌ی

اصلی عصب‌دهی است هرچند با حذف فارماکولوژیک ARC، حدود ۱۸ درصد عصب‌دهی NPYergic به PVN حفظ شد که مشخص گردید عمدتاً از ناحیه‌ی اعصاب کته‌کولامینرژیک مدولا آبلونگاتا هستند. در این نورون‌ها، NPY با اپی‌نفرین و نوراپی‌نفرین قرین است [۲۳، ۲۶]. در حضور سرما، فعالیت این اعصاب افزایش می‌یابد که نتیجه‌ی آن تحریک کته‌کولامینرژیک نورون‌های TRH و افزایش محتوای proTRH و هورمون‌های تیروئیدی است. البته این یک اثر گذراست و به حالت نرمال برمی‌گردد. به نظر می‌رسد که ترشح با تاخیر NPY به واسطه‌ی اثر پیش‌سیناپسی رسپتور Y2، باعث مهار ترشح کته‌کولامین‌ها می‌شود که به منظور کاهش نرخ متابولیک و حفظ انرژی می‌باشد [۲۳، ۳۲].

لپتین، هورمون مترشحه از ادیپوسایت‌ها، نقش تحریکی بر ترشح TRH دارد به طوری که تزریق سیستمیک آن به موش‌های محروم از غذا، هایپوتیروئیدیسم را برطرف کرد و سطح TRH و هورمون‌های تیروئیدی را به سطح نرمال رساند [۲۱، ۲۴]. هرچند رسپتورهای لپتین روی نورون‌های TRH جایابی شده‌اند ولی به نظر می‌رسد که اثر لپتین مستقیم نیست زیرا با حذف ARC اثر تحریکی تزریق لپتین بر سنتز proTRH مشاهده نمی‌شود. احتمالاً لپتین با تحریک ترشح α-MSH در ARC و ترشح CART در ARC و PVN اثر خود را اعمال می‌کند و در زمان گرسنگی همراه با کاهش سطح لپتین، سطح آنها نیز کاهش می‌یابد [۱۲، ۱۴].

یک نکته‌ی قابل توجه در دو آزمایش تزریق مغزی NPY و AGRP به رت‌های با تغذیه‌ی نرمال اینست که کاهش در سطح TRH و هورمون‌های تیروئیدی همراه با افزایش سطح لپتین بود. بنابراین اثر مهاری سطوح بالای NPY و AGRP در مغز بر اثر تحریکی سطوح بالای لپتین در گردش غلبه کرده و محور تایروتروپ سرکوب شده است [۱۲، ۱۴].

مطالعات صورت گرفته در جوندگان، اثر مهاری چشمگیر و شدید NPY بر ترشح TRH و هورمون‌های تیروئیدی را نشان می‌دهد در حالی که در تحقیق حاضر سطوح مختلف NPY اثر افزایشی وابسته به دز بر غلظت T_4 و T_3 داشت به طوری که تیمار H باعث افزایش ۱۱ برابری نسبت به تیمار C در مرحله‌ی تزریق و افزایش تقریباً ۸ برابری نسبت به دوره‌ی قبل تزریق شد. اثر افزایشی در تیمار M نیز با شدت کمتری نسبت به تیمار H مشاهده شد. تیمار H، غلظت T_3 را نیز نسبت به تیمار C در مرحله‌ی تزریق ۵-۴ برابر و نسبت به دوره‌ی قبل تزریق حدود ۶ برابر افزایش داد. نتایج تحقیق حاضر تا حدی با نتایج حاصله در بیماران NTI سازگار است زیرا در این بیماران بین محتوای NPY در اینفاندیبولوم و محتوای mRNA مولد TRH در PVN ارتباط آماری مستقیم وجود دارد [۱۵] هرچند در این بیماران اثر تزریق سیستمیک یا مغزی NPY بررسی نشده است.

بیان شده که فعالیت آنزیم 5' deiodonase II که مسوول تبدیل T_4 به T_3 در بافت‌های پیرامونی است، با تزریق NPY افزایش می‌یابد. احتمالاً تحریک اعصاب دوپامینرژیک توسط NPY در این بافت‌ها، باعث افزایش فعالیت آنزیم و در نتیجه افزایش نسبت T_3 به T_4 می‌شود برای مثال آزمایش تزریق مغزی NPY، افزایش ۷ برابری فعالیت دوپامینرژیک در بافت چربی قهوه‌ای و افزایش نسبت T_3 به T_4 مشاهده شد [۱۴، ۲۸]. در تحقیق حاضر، عکس این حالت اتفاق افتاد به طوری که نسبت T_3 به T_4 در گروه تیماری H، از ۱ به ۳۸/۲۹ در مرحله‌ی قبل تزریق به ۱ به ۴۷/۴۵ در مرحله‌ی تزریق تغییر کرد که این مشابه این روند در تیمار M نیز مشاهده شد. البته کاهش نسبت T_3 به T_4 مشاهده شده در تحقیق حاضر را نمی‌توان به کاهش فعالیت اعصاب دوپامینرژیک یا آنزیم 5' deiodonase II نسبت داد چون T_4 شکل اصلی ترشح هورمون‌های تیروئیدی و پیشساز T_3 است و بنا به نیاز بافتها تبدیل به T_3 می‌شود این امکان وجود دارد که تزریق NPY سنتز T_4 را افزایش داده که نسبت این افزایش بیشتر از نسبت افزایش سنتز T_3 در تیروئید و یا تبدیل T_4 به T_3 در بافت‌های پیرامونی است.

در این تحقیق اثر تحریکی NPY بر غلظت هورمون‌های تیروئیدی گذرا بود زیرا با اتمام مرحله‌ی تزریق در روز دهم، در سه روز متوالی مرحله‌ی بعد تزریق، منحنی روند نزولی به خود

می‌گیرد. نکته‌ی قابل توجه، معنی‌داری تفاوت بین سطح هورمون‌ها در تیمارهای L، M و H در مرحله‌ی بعد تزریق نسبت به تیمار C می‌باشد. دلایل آن مربوط به اثر افزایشی بارز این تیمارها و طولانی بودن نیمه‌عمر هورمون‌های تیروئیدی دانست و احتمالاً اگر مرحله‌ی بعد تزریق بیش از سه روز می‌بود، سطح هورمون‌ها به سطح اولیه در مرحله‌ی قبل تزریق باز می‌گشت. وجود اثر افزایشی وابسته به دز NPY بر غلظت T_4 و T_3 و عدم معنی‌داری اثر تیمار L در اندازه‌گیری T_3 نشان دهنده‌ی مناسب بودن دزهای مورد استفاده با اهداف تحقیق است و برای تزریق درون‌رگی در مطالعات مشابه می‌توان از آنها استفاده کرد. هرچند توصیه می‌گردد برای درک بهتر اثر NPY بر محور تایروتروپ، تزریق مغزی صورت گیرد. همچنین مقدار غذای مصرفی تمام حیوانات یکسان و در حد نرمال باشد و سطح هورمون‌های TRH، TSH و لپتین نیز اندازه‌گیری شود. تناقضات موجود در مطالعات روی جوندگان با تحقیق حاضر می‌تواند ناشی از عواملی مانند متدولوژی و شرایط آزمایشی متفاوت و همچنین تفاوت در عملکرد سیستم‌های کنترل کننده‌ی ترشح هورمون‌های تیروئیدی در بز با جوندگان باشد. در مطالعات روی رت‌ها از تزریق مغزی استفاده شده بود ولی در تحقیق حاضر از تزریق درون‌رگی استفاده گردید. شاید به علت تزریق منفرد روزانه NPY و کوتاه بودن نیمه‌عمر آن، اثرات مرکزی NPY حاصل نشده است. از طرفی با توجه به جایابی رسپتورهای NPY روی سلول‌های فولیکولار غده‌ی تیروئید و همچنین ادیپوسایت‌ها، امکان اثربخشی NPY بر فعالیت ترشحی این سلول‌ها وجود دارد مثلاً ممکن است پاسخ‌دهی سلول‌های فولیکولار به TSH افزایش یافته باشد. تزریق مغزی NPY و AGRP در رت‌های با تغذیه‌ی نرمال، سطح لپتین در گردش افزایش داده است [۱۲، ۱۴] پس ممکن است در حیوانات مورد استفاده در تحقیق حاضر نیز چنین اتفاقی افتاده باشد. ضمناً دوره‌ی تحقیق ما نسبت به سایر مطالعات طولانی‌تر بود (۱۳ روز) که در این مدت تزریق روزانه‌ی NPY می‌توانسته با تحریک اشتها و به تبع آن بالا رفتن متابولیت‌های خونی، زمینه را برای ترشح بیشتر لپتین فراهم کرده باشد.

در مجموع بر خلاف نتایج حاصله در جوندگان، در این تحقیق اثر کاملاً افزایشی و وابسته به دز NPY بر غلظت هورمون‌های تیروئیدی در بز با تغذیه‌ی نرمال مشاهده شد که این مغایرت می‌تواند ناشی از متدولوژی و شرایط آزمایشی متفاوت و یا تفاوت در عملکرد چارچوب نوروانـدوکرین کنترل کننده‌ی محور تایروتروپ در جوندگان با نشخوارکنندگان باشد.

منابع

[1] Wittmann G, Liposits Z, Lechan RM, Fekete C, Medullary adrenergic neurons contribute to neuropeptide Yergic innervation of hypophysiotrapic thyrotropin-releasing hormone-synthesizing neurons in rats. ***Neurosci Lett*** 324 (2002) 69-73.

[2] Toni R, Lechan RM, Neuroendocrine regulation of thyrotropin-releasing hormone (TRH) in the tuberinfundibular system. ***J Endocrinol Invest*** 16 (1993) 715-35.

[3] Kakucska I, Rand W, Lechan RM, Thyrotropin-releasing hormone gene expression in the hypothalamic paraventricular nucleus in dependent upon feedback regulation by both triiodothyronine and thyroxin. ***Endocrinol*** 130 (1992) 2845-50.

[4] Fekete C, Sarkar S, Rand WM, Harney JW, Emerson CH, Bianco AC, Lechan RM. Agouti-Related Protein (AGRP) has a central inhibitory action on the Hypothalamic-Pituitary-Thyroid (HPT) axis; comparisons between the effect of AGRP and Neuropeptide Y on energy homeostasis and the HPT axis. ***Endocrinol*** 143 (10) 3846-53.

[5] Fekete C, Kelly J, Mihaly E, Sarkar S, Rand WM, Legardi G, Emerson CH, Lechan RM, Neuropeptide Y has a central inhibitory action on the hypothalamic-pituitary-thyroid axis. ***Endocrinol*** 142 (2001) 2606-13.

[6] Balasubramaniam A, Clinical potential of neuropeptide Y family of Horemones. ***Am J Surg*** 183 (2002) 430-4.

[7] Silva AP, Cavadas1 C, Grouzmann E, Neuropeptide Y and its receptors as potential therapeutic drug targets. ***Clin Chim Acta*** 326 (2002) 3 -25.

[8] Dumont Y, Martel JC, Fournier A, St-Pierre S, Quirion R, Neuropeptide Y and neuropeptide Y receptor subtypes in brain and peripheral tissues. ***Prog Neurobiol*** 38 (1992) 125–67.

[9] Tatemoto K, Carlquist M, Mutt V, Neuropeptide Y: a novel brain peptide with structural similarities to peptide YY and pancreatic polypeptide. ***Nature*** 296 (1982) 659-60.

[10] Toni R, Jackson IM, Lechan RM, Neuropeptide-Y-immunoreactive innervation of thyrotropin-releasing hormone-synthesizing neurons in the rat hypothalamic paraventricular nucleus. ***Endocrinol*** 126 (1990) 2444-53.

[11] Legardi G, Lechan RM, The arcuate nucleus is the major source for neuropeptide Y innervatioin of thyrotropin-releasing hormone neurons in the hypothalamic paraventricular nucleus. ***Endocrinol*** 193 (1998) 3262-70.

[12] Billington CJ, Briggs JE, Harker S, Grace M, Levine AS, Neuropeptide Y in hypothalamic paraventricular nucleus: a center coordinating energy metabolism. ***Am J Physiol*** 266 (1994) 1765-70.

[13] Broberger C, Visser TJ, Kuhar MJ, Hokfelt T, Neuropeptide Y innervation and neuropeptide-Y-Y1-receptor-expressing neurons in the paraventricular hypothalamic nucleus of the mouse. ***Neuroendocrinol*** 70 (1999) 295-305.

[14] Harfstrand A, Eneroth P, Agnati L, Fuxe K, Further studies on the effects of central administration of neuropeptide Y on neuroendocrine function in the male rat: relationship to hypothalamic catecholamines. ***Regul Peptides*** 17 (1987) 167-79.

[15] Nillni EA, Vaslet C, Harris M, Hollenberg A, Bjorbak C, Flier JS, Leptin regulates prothyrotropin-releasing hormone biosynthesis. Evidence for direct and indirect pathway. ***J Biol Chem*** 275 (2000) 36124-33.

[16] Erickson JC, Ahima RS, Hollopeter G, Flier JS, Palmiter RD, Endocrine function of neuropeptide Y knockout mice. ***Regul Peptides*** 70 (1997) 199-202.

[17] Ahima RS, Prabakaran D, Mantzoros C, Qu D, Lowell B, Maratos-Flier E, Flier JS, Role of leptin in the neuroendocrine response to fasting. ***Nature*** 382 (1996) 250-2.

[18] Blake NG, Eckland DJ, Foster OJ, Lightman SL, Inhibition of hypothalamic thyrotropin-releasing hormone messenger ribonucleic acid during food deprivation. ***Endocrinol*** 129 (1991) 2714-18.

[19] Rondeel JM, Heide R, de Greef WJ, van Toor H, van Haasteren GA, Klootwijk W, Visser TJ, Effect of starvation and subsequent refeeding on thyroid function and release of hypothalamic thyrotropin-releasing hormone. ***Neuroendocrinol*** 56 (1992)348-53.

[20] Brady Ls, Smith MA, Gold PW, Herkenham M, Altered expression of hypothalamic neuropeptide mRNA in food restricted and food deprived rats. ***Neuroendocrinol*** 52 (1990) 441-47.

[21] Legradi G, Emerson CH, Ahima RS, Flier JS, Lechan RM, Leptin prevents fasting-induced suppression of prothyrotropin-releasing hormone messenger ribonucleic acid in neurons of the hypothalamic paraventricular nucleus. ***Endocrinol*** 138 (1997) 2569-76.

[22] Harris M, Aschkenasi C, Elias CF, Chandrankunnel A, Nillni EA, Bjørbaek C, Elmquist JK, Flier JS, Hollenberg AN, Transcriptional regulation of the thyrotropin-releasing hormone gene by leptin and melanocortin signaling. ***J Clin Invest*** 107 (2001) 111-20.

[23] Cheung CC, Clifton DK, Steiner RA, Proopiomelanocortin neurons are direct

Lechan RM, Association of CART-immunoreactive elements with thyrotropin-releasing hormone-synthesizing neurons in the hypothalamic paraventricular nucleus and its role in the regulation of the hypothalamic-pituitary-thyroid axis during fasting. ***J Neurosci*** 20 (2000) 9224-34.

[29] Sawchenko PE, Swanson LW, Grzanna R, Howe PR, Bloom SR, Polak JM, Colocalization of neuropeptide Y immunoreactivity in brainstem catecholaminergic neurons that project to the paraventricular nucleus of the hypothalamus. ***J Com Neurol*** 241(1985) 138-53.

[30] Flier E, Unmehopa UA, Mnniesing S, Vuijst CL, Wiersinga WM, Swaab DF, Decreased neuropeptide Y (NPY) expression in the infundibular nucleus of patients with nonnthyroidal illness. ***Peptides*** 22 (2001) 459-65.

[31] De groot LJ, Dangerous dogmas in medicine: the nonthyroidal illness syndrome, ***J Endocrinol Metab*** 84 (1999) 151-64.

[32] Uribe RM, Redondo JL, Charli JL, Bravo JP, Suckling and cold stress rapidly and transiently increase TRH mRNA in the paraventricular nucleus. ***Neuroendocrinology*** 58 (1993) 140-5.

[33] Silva JE, Larsen PR, Potential of brown adipose tissue type II thyroxine 5'-deiodinase as a local and systemic source of triiodothyronine in rats. ***J Clin Invest*** 76 (1985) 2296-305.

targets for leptin in the hypothalamus. ***Endocrinol*** 138 (1997) 4489-92.

[24] Kim MS, Small CJ, Stanley SA, Morgan DG, Seal LJ, Kong WM, Edwards CM, Abusnana S, Sunter D, Ghatei MA, Bloom SR, The central melanocortin system affects the hypothalamo-pituitary thyroid axis and may mediate the effect of leptin. ***J Clin Invest*** 105 (2000)1005-11.

[25] Lechan RM, Alpha-Melanocyte-stimulating hormone is contained in nerve terminals innervating thyrotropin-releasing hormone-synthesizing neurons in the hypothalamic paraventricular nucleus and prevents fasting-induced suppression of prothyrotropin-releasing hormone gene expression. ***J Neurosci*** 20 (2000) 1550-58.

[26] Mihaly E, Fekete C, Tatro JB, Liposits Z, Stopa EG, Lechan RM, Hypophysiotropic thyrotropin-releasing hormone-synthesizing neurons in the human hypothalamus are innervated by neuropeptide Y, agouti-related protein, and α-melanocyte-stimulating hormone. ***J Clin Endocr Metab*** 85 (2000) 2596-603.

[27] Broberger C, Hypothalamic cocaine- and amphetamine-regulated transcript (CART) neurons: histochemical relationship to thyrotropin-releasing hormone, melanin- concentrating hormone, orexin/hypocretin and neuropeptide Y. ***Brain Res*** 848 (1999) 101-13.

[28] Fekete C, Mihaly M, Luo LG, Kelly J, Clausen JT, Mao Q, Rand WM, Moss LG, Kuhar M, Emerson CH, Jackson IMD,