



Coexpression of gonadotropin inhibitory hormone with Agouti-related peptide in the neurons of arcuate nucleus of ewe hypothalamus

Mohammad Reza Jafarzadeh Shirazi¹, Amin Tamadon² Mohammad Reza Namavar^{3*}

1. Dept. Animal Sciences, School of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran

2. Dept. Animal Health Management, School of Veterinary Medicine, Shiraz University & Stem Cell and Transgenic Technology Research Center, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran

3. Dept. Anatomical Sciences, School of Medicine, Histomorphometry & Stereology Research Center, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran

Received: 24 Nov 2010

Accepted: 9 March 2011

Abstract

Introduction: Gonadotropin inhibitory hormone (GnIH) and Agouti-related peptide (AgRP) are orexigenic peptides expressed in the arcuate nucleus (Arc) of the hypothalamus in the ewe. In addition, effects of GnIH and AgRP on the regulation of gonadotropin releasing hormone secretion have been shown in some mammals. The objective of the present study was to investigate the coexpression of GnIH and AgRP in Arc of the ewe hypothalamus.

Methods: Nine ewes were divided into follicular, luteal, and ovariectomised groups (n = 3 each group) and the number of neurons that express GnIH and AgRP and the percentage of coexpression of these two peptides in the Arc of each group was estimated by using immunohistochemistry.

Results: In different ovarian conditions of ewes, 19 to 32 percent of GnIH and AgRP neurons were coexpressed in the Arc of the hypothalamus.

Conclusion: Results of the present study showed a possible cooperative role of AgRP and GnIH in the Arc of the hypothalamus in regulation of ovarian function in ewe.

Key words: Gonadotropin inhibitory hormone, Agouti-related peptide, Arcuate nucleus, Ewe

* Corresponding author e-mail: namavarm@sums.ac.ir
Available online at: www.phypha.ir/ppj

هم بیانی هورمون مهار کننده گنادوتروپین با پتید وابسته به آگوتی در نورون‌های هسته کمائی میش

محمد رضا جعفرزاده شیرازی^۱، امین تمدن^۲، محمد رضا نام‌آور^{۳*}

۱. گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز، شیراز

۲. گروه مدیریت بهداشت دام، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، مرکز تحقیقات سلول‌های بنیادی و فناوری ترانسژنیک، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز

۳. گروه علوم تشریحی، دانشکده پزشکی، مرکز تحقیقات هیستومورفومتری و استریولوژی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز

پذیرش: ۱۸ اسفند ۸۹

دریافت: ۳ آذر ۸۹

چکیده

مقدمه: هورمون مهار کننده گنادوتروپین (GnIH، Gonadotropin inhibitory hormone) و پتید وابسته به آگوتی (AgRP، Agouti-related peptide) دو نوروپپتید محرک اشتها هستند که در نورون‌های هسته کمائی (Arcuate nucleus، Arc) هیپوتالاموس میش بیان می‌شوند. همچنین اثرات GnIH و AgRP در کاهش ترشح هورمون محرک گنادوتروپین در برخی پستانداران روشن شده است. هدف مطالعه حاضر بررسی هم بیان شدن نورون‌های GnIH و AgRP در Arc هیپوتالاموس میش بود.

روش‌ها: نه راس میش به گروه‌های فولیکولی، لوتال و تخمدان برداری شده ($n=3$) تقسیم شدند و تعداد نورون‌های بیان کننده GnIH و AgRP و درصد هم بیان شدن این دو پپتید در Arc هر گروه با روش ایمنونوهیستوشیمی تعیین شد.

یافته‌ها: ۱۹ تا ۳۲٪ از نورون‌های AgRP و GnIH در Arc هیپوتالاموس در حالت‌های مختلف تخمدانی میش با هم بیان شدند.

نتیجه گیری: یافته‌های مطالعه حاضر نقش مشترک احتمالی AgRP و GnIH در Arc هیپوتالاموس را در کنترل فعالیت‌های تخمدانی میش نشان می‌دهد.

واژه‌های کلیدی: هورمون مهار کننده گنادوتروپین، پتید وابسته به آگوتی، هسته کمائی، میش

مقدمه

هیپوتالاموس - هیپوفیزی بلدرچین شناسایی شد [۲۴]. این پپتید به دلیل اثر مهارری در سنتز و ترشح گنادوتروپین‌ها به نام GnIH خوانده شد [۲۸]. نورون‌های GnIH در هسته اطراف بطنی (Paraventricular nucleus) و سایر نواحی هیپوتالاموس پرندگان قرار دارند [۲۵]. ارتباط بین آکسون نورون‌های GnIH با نورون‌های GnRH در پرندگان و پستانداران نشان داده شده است [۳، ۱۵]. پپتید GnIH باعث کاهش ترشح هورمون آزاد کننده گنادوتروپین (GnRH، Gonadotropin releasing hormone) می‌شود.

هورمون مهار کننده گنادوتروپین (GnIH، Gonadotropin inhibitory hormone) یک ترکیب دوازده پپتیدی از خانواده پپتیدهای آر - اف آمید (آرژنین - فیل‌آلانیین) (RFamide peptide) است که نخستین بار در سیستم

* نویسنده مسئول مکاتبات: namavarm@sums.ac.ir

وبگاه مجله: www.phypha.ir/ppj

میش، GnIH و AgRP را با هم بیان کنند و پپتید GnIH و AgRP در زمان نبود تحریکات تخمدانی نسبت به زمان فعالیت تخمدانی بیشتر بیان شوند. بنابراین مطالعه حاضر با هدف بررسی هم بیان شدن هورمون مهار کننده گونادوتروپین و پپتید وابسته به آگوتی در نورون‌های هسته کمائی هیپوتالاموس میش انجام شد.

مواد و روش ها

نه راس میش از نژاد مخلوط با وزن تقریبی ۴۰ کیلوگرم و سن ۳ سال در فصل جفت‌گیری، انتخاب و در شرایط مشابه محیطی و تغذیه‌ای قرار داده شدند. بر اساس غلظت پلاسمایی LH و پروژسترون [۷] زمانی که میش‌ها در مرحله فولیکولی (۳ میش) و مرحله لوتئال (۳ میش) قرار داشتند، دو تزریق هپارین به میزان ۲۵۰۰۰ واحد با فاصله ۱۰ دقیقه انجام شد. سه میش دیگر نیز از ۳ هفته پیش از شروع مطالعه تخمدان برداری شدند و به همان صورت هپارین به آنها تزریق شد.

بلافاصله بعد از تزریق هپارین میش‌ها با تزریق سدیم پنتوتاریتال (حدود ۲ گرم در ۷ میلی‌لیتر سالین نرمال) در سرخرگ کاروتید کشته شدند و سرهای آنها به شکل دو طرفه با ۶ لیتر پارافرمالدهاید ۴٪ در بافر فسفات ۰/۱ مولار (pH=۷/۴) دارای هپارین (۱۰ واحد بر میلی‌لیتر) پرفیوز شدند. بافت حاوی Arc جمع‌آوری و به شرح زیر آماده‌سازی شد. پس از بیرون آوردن مغز، ناحیه حاوی Arc جدا شده و در محلول ثابت کننده بافر پارافرمالدهاید ۴٪ در دمای ۴ درجه سانتیگراد به مدت یک شب قرار داده شد. سپس در محلول سوکروز ۳۰٪ در بافر فسفات ۰/۱ مولار در دمای ۴ درجه سانتیگراد قرار داده شد. قطعه‌های منجمد با ضخامت ۵۰ میکرومتر با دستگاه میکروتوم فریز کننده (لیکا، آلمان) به صورت کورونال برش داده شدند و در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد، در محلول دارای ماده حفاظت کننده از یخ‌زدگی تا زمان آزمایش ایمونوهیستوشیمی نگهداری شدند.

برای بررسی ایمونوهیستوشیمی، قطعاتی از ناحیه جلویی، میانی و پشتی Arc انتخاب و روی اسلاید میکروسکوپی تثبیت شدند. قطعه‌های بافت به منظور بازیابی آنتی‌ژنی با محلول ۰/۰۵ مولار فسفات بافر سالین دو بار و به مدت ۵ دقیقه در

در پستانداران [۲۷] و از آن جمله در گوسفند [۸] پپتید وابسته به آرژنین - فنیل‌آلانین - آمید (RFRP، Arginine-phenylalanine-amide-related peptide) که شامل RFRP-1، RFRP-2 و RFRP-3 می‌شود، اثرات مشابه GnIH دارد. پژوهش‌ها نشان داده‌اند که mRNA و پپتید GnIH/RFRP در هسته‌های پشتی - داخلی (Dorsomedial) هیپوتالاموس موش صحرایی و همستر متمرکز شده‌اند [۱۲]، [۱۵] و تزریق داخل بطن مغزی و تزریق عمومی RFRP ترشح هورمون لوتئینی کننده (Luteinizing hormone, LH) در همستر را مهار می‌کند [۱۵]. به تازگی مشخص شده است که RFRP-3 در هسته‌های پشتی - داخلی میش سبب مهار ترشح گونادوتروپین می‌شود [۲۰].

از سوی دیگر پپتید وابسته به آگوتی (AgRP، Agouti-related peptide) نیز یک پپتید اشتهاآور است [۲۱]. نورون‌های بیان کننده این پپتید نیز به شکل گسترده‌ای در هیپوتالاموس گوسفند به خصوص هسته کمائی (Arc، Arcuate nucleus) پراکنده شده‌اند [۲]. نورون‌های زیادی در Arc هم AgRP و هم نوروپپتید Y (NPY، Neuropeptide Y) را بیان می‌کنند که پپتید اشتهاآور دیگری است [۱۱]. Arc به عنوان واسطه تاثیر سیگنال‌های متابولیکی عمل می‌کند و نورون‌های NPY/AgRP در این هسته به عنوان واسطه‌های کلیدی در پاسخ به کمبودهای غذایی و تنظیم تعادل انرژی عمل می‌کنند. هورمون‌های مختلفی (انسولین، لپتین، گلوکوکورتیکوئیدها و غیره) سبب تغییرات بیان شدن AgRP بر اساس تنظیم مکانیزم هموستاز انرژی می‌شوند [۲۱]. نشان داده شده است که NPY در تنظیم تولیدمثل نیز موثر می‌باشد [۱].

همچنین نشان داده شده است که نورون‌های بیان کننده NPY به بدنه نورون‌های ترشح کننده GnRH در ناحیه پیش-بینایی (Preoptic area) هیپوتالاموس اتصالاتی برقرار می‌کنند [۱۰]. با تزریق درون بطنی NPY در موش‌های صحرایی تخمدان برداری شده ترشح LH مهار شد [۱۳]. با توجه به این که GnIH و AgRP در هیپوتالاموس گوسفند به عنوان میانجی مهار محور تولیدمثلی عمل می‌کنند و ارتباط بین تولید مثل و انرژی مشخص است؛ فرض بر این است که ممکن است بخشی از جمعیت نورونی Arc هیپوتالاموس

یافته ها

در شکل ۱ نمونه‌ای از حضور نورون‌های بیان کننده GnIH در هسته کمائی میش که AgRP را نیز بیان می‌کنند در میش تخمدان برداری شده نشان داده است. آزمون آنالیز واریانس یک طرفه نشان داد که در دو گروه لوتال و تخمدان- برداری شده، تعداد نورون‌های GnIH در بخش میانی Arc هیپوتالاموس به طور معنی‌داری نسبت به دو بخش دیگر بیشتر بود ($P < 0.05$ ، شکل ۲- الف) ولی تعداد نورون‌های AgRP در هر سه بخش (یعنی جلویی، میانی و پشتی) Arc هیپوتالاموس اختلاف معنی‌داری نداشت ($P > 0.05$ ، شکل ۳- الف). همچنین بدون در نظر گرفتن بخش‌های مختلف Arc هیپوتالاموس در بین سه گروه مطالعه، تعداد نورون‌های GnIH و نورون‌های AgRP به صورت معنی‌داری در گروه تخمدان برداری شده بیشتر از دو گروه دیگر بود ($P < 0.01$ ، شکل ۴- الف).

درصد نورون‌های GnIH با بیان AgRP در هر سه گروه مطالعه و در هر سه بخش Arc هیپوتالاموس اختلاف آماری معنی‌داری نداشتند ($P > 0.05$ ، شکل ۲- ب). همچنین درصد نورون‌های AgRP با بیان GnIH در هر سه گروه مطالعه و در هر سه بخش اختلاف معنی‌داری نداشتند ($P > 0.05$ ، شکل ۳- ب). از سوی دیگر بدون در نظر گرفتن بخش‌های مختلف Arc هیپوتالاموس در بین سه گروه مطالعه درصد نورون‌های GnIH که AgRP را نیز بیان می‌کردند، اختلاف معنی‌داری نداشتند ($P > 0.05$)؛ ولی درصد نورون‌های AgRP که GnIH را نیز بیان می‌کردند، در گروه تخمدان برداری شده به طور معنی‌داری بیشتر از دو گروه دیگر بود ($P = 0.02$ ، شکل ۴- ب).

در هر سه ناحیه Arc تعداد نورون‌های GnIH در گروه تخمدان برداری شده به طور معنی‌داری بیشتر از دو گروه مطالعه دیگر بود ($P < 0.05$ ، شکل ۲- ج) ولی این برتری معنی‌دار در تعداد نورون‌های AgRP میش‌های تخمدان برداری شده فقط در بخش‌های جلویی و پشتی Arc مشاهده شد ($P < 0.05$ ، شکل ۳- ج).

بین سه گروه مطالعه درصد نورون‌های GnIH که AgRP را نیز بیان می‌کردند، در هر بخش Arc به صورت جداگانه، اختلاف آماری معنی‌داری نداشتند ($P > 0.05$ ، شکل ۲- د) ولی درصد نورون‌های AgRP که GnIH را نیز بیان می‌کردند،

اجاق میکروویو شسته شدند. سپس قطعه‌ها در سرم بلوک کننده حاوی تریتون ایکس -۱۰۰ (Triton X-100) ۰/۳٪ و سرم نرمال بز ۱۰٪ محلول در فسفات بافر سالین ۰/۱ مولار قرار گرفتند. سپس قطعات به مدت ۱ ساعت در دمای ۴ درجه سانتیگراد انکوبه شدند. بعد مخلوطی از آنتی‌بادی پلی‌کلنال GnIH (۱:۱۰۰۰) و AgRP (۱:۱۰۰۰) بز که در خرگوش تولید شده است (آنتی‌بادی استرالیا، ملبورن، استرالیا) اضافه و به مدت ۴۸ ساعت انکوبه شد.

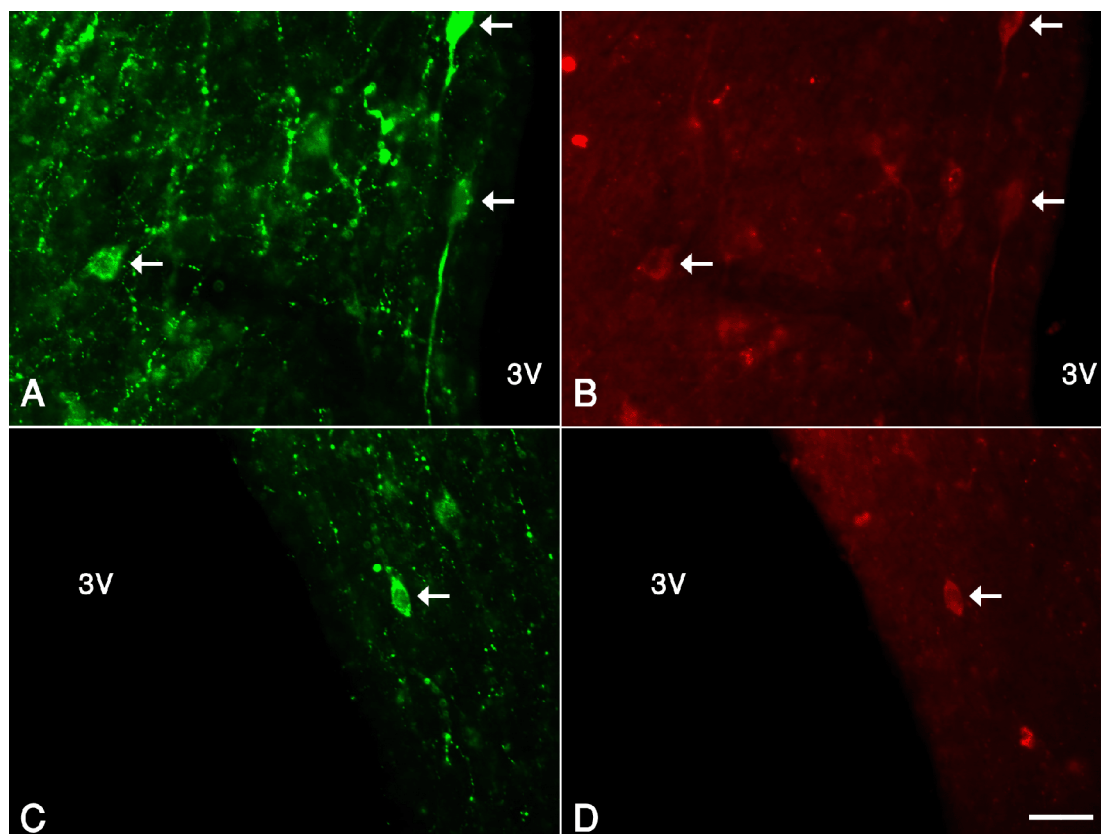
قطعه‌ها ابتدا با محلول فسفات بافر سالین ۰/۰۵ مولار شسته شده و سپس آنتی‌بادی ثانویه بر علیه خرگوش آلكسا ۴۸۸ (Alexa 488) و آلكسا ۵۶۸ (Alexa 568) (۱:۲۵۰) (جکسون ایمونوریسرچ لابوریتوریز، آمریکا) به ترتیب برای نمایان شدن GnIH و AgRP اضافه شدند.

بعد از اینکه نمونه‌ها با محلول فسفات بافر سالین ۰/۰۵ مولار شسته شدند. اسلایدها با محلول تثبیت کننده ضد کمرنگ شدگی (Antifade) ماده فلورسنت (داکو، آمریکا) پوشانیده شدند. مراحل نمونه برداری و آماده سازی در مزرعه وری بی دانشگاه موناخ استرالیا و ارزیابی نمونه‌ها بعد از انتقال در دانشگاه شیراز انجام شد. کلیه مراحل پژوهش تحت نظارت کمیته مراقبت و استفاده از حیوانات دانشگاه موناخ انجام شد.

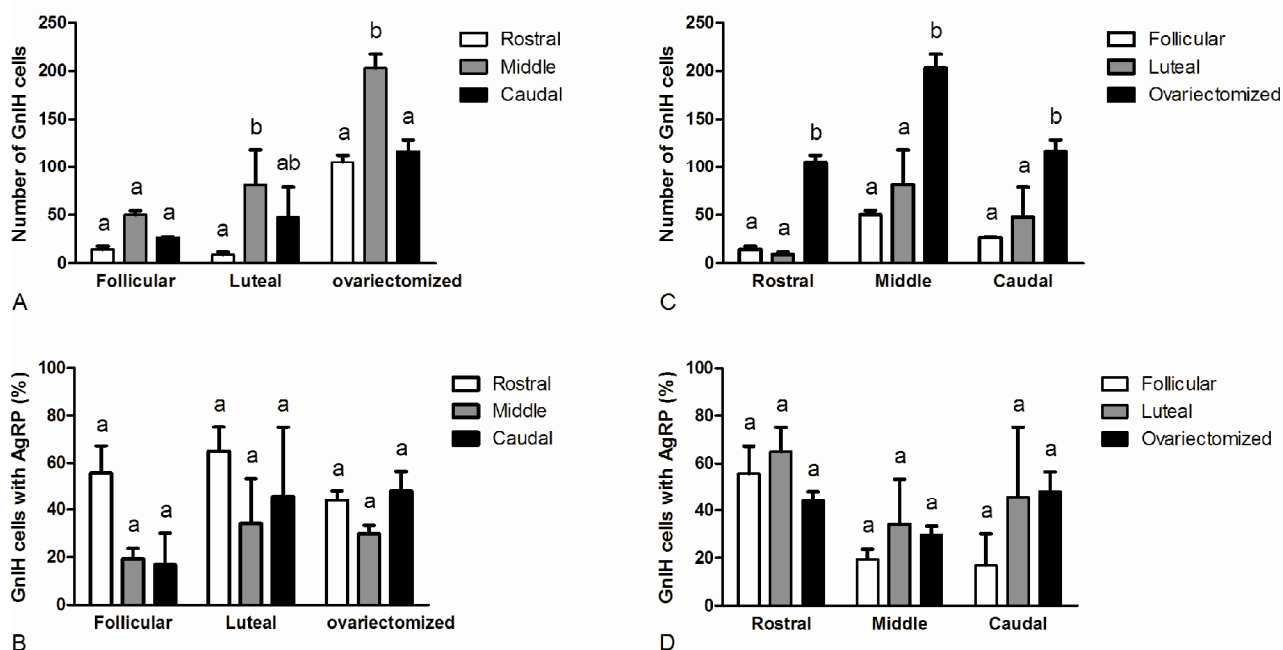
در جایگاه‌های مختلف Arc هیپوتالاموس نورون‌های واکنش دهنده ایمنی GnIH با میکروسکوپ فلورسنت (زایس، آمریکا) و آلكسا ۴۸۸ در طول موج ۵۰۵ نانومتر و آلكسا ۵۶۸ در طول موج ۵۴۳ شمارش شدند. در هر قطعه تعداد نورون‌های بیان کننده GnIH و نورون‌های بیان کننده AgRP و همچنین میزان هم بیان شدن GnIH و AgRP شمارش شدند.

تفاوت تعداد و درصد نورون‌های دارای GnIH و AgRP، هر کدام به تنهایی و نیز به صورت هم بیان شدن، در هر سه گروه، با و بدون در نظر گرفتن بخش‌های سه‌گانه (جلویی، میانی و پشتی) Arc، با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه (one-way ANOVA) و آزمون تکمیلی LSD برای مقایسه میانگین‌ها آنالیز آماری شدند (نرم‌افزار SPSS ۱۱/۵ تحت ویندوز).

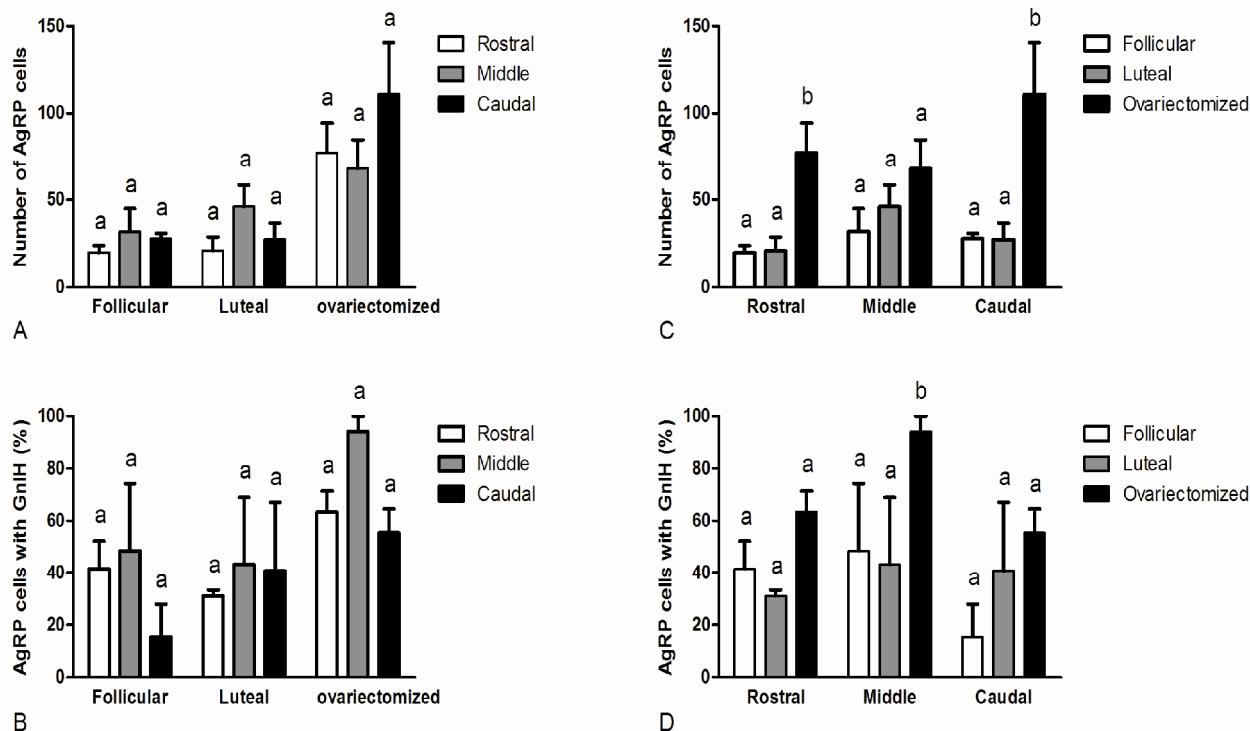
$P \leq 0.05$ به عنوان سطح معنی‌دار در نظر گرفته شد. در این تحقیق نکات اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی رعایت شده است.



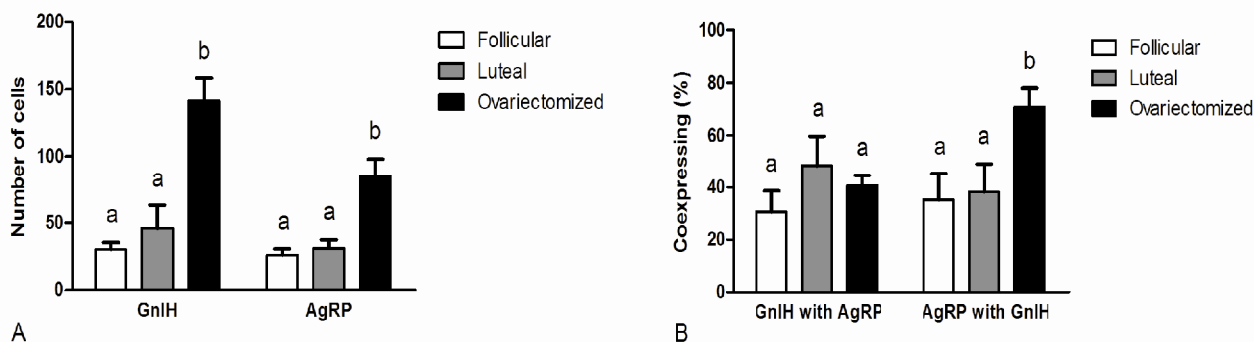
شکل ۱ - نمونه‌ای از نورون‌های (پیکان) بیان کننده GnIH (A و C) در هسته کمانی می‌باشد که AgRP (B و D) را نیز بیان می‌کنند. شکل‌ها مربوط به ناحیه پستی (A و B) و ناحیه جلویی (C و D) هسته کمانی در میش تخمدان‌برداری شده می‌باشند. شاخص ۲۰ میکرومتر است.



شکل ۲ - A: تعداد نورون‌های بیان کننده GnIH و B: درصد نورون‌های GnIH که AgRP را نیز بیان می‌کنند، در بخش‌های مختلف هسته کمانی هیپوتالاموس در سه گروه مطالعه میش (n=3). C: تعداد نورون‌های بیان کننده GnIH و D: درصد نورون‌های GnIH که AgRP را نیز بیان می‌کنند، در گروه‌های مطالعه مختلف بسته به بخش نورون (n=3) در هسته کمانی هیپوتالاموس مغز میش. حروف نامتشابه بالای هر سه ستون مجاور نشانگر وجود اختلاف آماری معنی‌دار ($P < 0.05$) در همان دسته ستون می‌باشد. نتایج به صورت میانگین $\pm$ خطای معیار نشان داده شده است.



شکل ۳- A: تعداد نورون‌های بیان کننده AgRP و B: درصد نورون‌های AgRP که GnIH نیز بیان می‌کنند، در بخش‌های مختلف هسته کمانی هیپوتالاموس در سه گروه میش (n=3). C: تعداد نورون‌های بیان کننده AgRP و D: درصد نورون‌های AgRP که GnIH را نیز بیان می‌کنند، در گروه‌های مطالعه مختلف بسته به بخش نورون (n=3) در هسته کمانی هیپوتالاموس مغز میش. حروف نامتشابه بالای هر سه ستون مجاور نشانگر وجود اختلاف آماری معنی‌دار ($P < 0.05$) در همان دسته ستون می‌باشد. نتایج به صورت میانگین $\pm$ خطای معیار نشان داده شده است.



شکل ۴- A: تعداد نورون‌های بیان کننده GnIH و AgRP و B: درصد نورون‌های GnIH که AgRP و نورون‌های AgRP که GnIH را در هسته کمانی هیپوتالاموس در سه گروه مطالعه میش (n=3) بیان می‌کنند. حروف نامتشابه بالای هر سه ستون مجاور نشانگر وجود اختلاف آماری معنی‌دار ($P < 0.05$) در همان دسته ستون بین سه گروه مطالعه می‌باشد. نتایج به صورت میانگین $\pm$ خطای معیار نشان داده شده است.

شده ۳۱/۷٪ از مجموع نورون‌های بیان کننده AgRP و بیان کننده GnIH در Arc هیپوتالاموس به طور همزمان این دو پپتید را بیان می‌کنند.

فقط در بخش میانی در گروه تخمدان برداری شده به طور معنی‌داری بیشتر از دو گروه دیگر بود ($P < 0.05$ ، شکل ۳-د). نتایج مطالعه حاضر نشان داد که در گامه فولیکولی ۱۸/۷۵٪، در گامه لوتئال ۲۳/۸٪ و در گروه تخمدان برداری

بحث

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که GnIH و AgRP در ۱۹ تا ۳۲٪ از نورون‌های Arc هیپوتالاموس در مراحل مختلف چرخه تولیدمثلی میش به طور همزمان بیان می‌شوند که نقش احتمالی مشترک GnIH و AgRP در کنترل فعالیت‌های تخمدانی میش را نشان می‌دهد. همچنین نتایج مطالعه حاضر نشان داد که بدون در نظر گرفتن بخش‌های مختلف Arc هیپوتالاموس در بین سه گروه مطالعه تعداد نورون‌های GnIH و نورون‌های AgRP در گروه تخمدان‌برداری شده بیشتر از دو گروه دیگر بود. همانطور که مشخص شده است برداشتن تخمدان باعث افزایش ناگهانی میزان پالس‌های LH در میش می‌شود [۱۷] و چون پپتید GnIH ترشح LH را کاهش می‌دهد [۵]، میزان بیان شدن آن در گروه تخمدان‌برداری شده نسبت به دو گروه دیگر افزایش یافته است. افزایش بیان نورون‌های AgRP در گروه تخمدان‌برداری شده نیز می‌تواند تاییدی بر عملکرد مشابه این پپتید بر ترشح LH در میش باشد.

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که درصد هم‌بیانی نورون‌های GnIH با AgRP و نیز درصد هم‌بیانی نورون‌های AgRP با GnIH در هر سه گروه مطالعه و در هر سه بخش Arc هیپوتالاموس تفاوتی نداشتند. این یافته نشانگر هم‌بیان شدن این دو پپتید در نورون‌های Arc هیپوتالاموس میش در مراحل مختلف تولیدمثلی است. بیش از این، بیان شدن AgRP در نورون‌های Arc هیپوتالاموس میش نشان داده شد ولی اثری از تاثیر گامه‌های تولید مثلی بر میزان بیان شدن این پپتید مشاهده نشد [۹]. نورون‌های در برگیرنده NPY به صورت تقریباً صد در صد با AgRP بیان می‌شوند [۱۱]. همچنین پایانه‌های فعال شده ایمنی با AgRP که توسط نورون‌های NPY سنتز می‌شود با نورون‌های GnRH سیناپس تشکیل می‌دهند [۲۶]. نشان داده شده است که NPY افزایش ناگهانی LH را مهار می‌کند [۱۴] و این عمل توسط AgRP نیز انجام می‌شود [۲۹]. از سوی دیگر نشان داده شده است که GnIH مهار کننده ترشح LH است [۱۵].

مشخص شده است که هورمون‌های استروئیدی فاکتورهای ایجاد کننده بی‌اشتهایی هستند [۴]. از سوی دیگر نشان داده شده است که پپتید GnIH با کاستن سطح استروئیدها به عنوان یک پپتید اشتهاآور عمل می‌کند [۲۳]. همچنین نورون‌های AgRP نیز در تعادل انرژی در برخی گونه‌ها مثل گوسفند نقش دارند [۱۶]. افزایش ترشح پالسی LH باعث افزایش تولید استرادیول از فولیکول‌هایی می‌شوند که در حال رشد برای تخم‌کری می‌باشند، و افزایش مقدار استرادیول در زمان کاهش غلظت پروژسترون سبب آزادسازی ناگهانی LH می‌شود [۱۸]. استرادیول بیان شدن GnRH و AgRP در NPY و همچنین بیان شدن NPY در هسته اطراف بطنی (Paraventricular nucleus) هیپوتالاموس موش‌های تخمدان‌برداری شده را کاهش می‌دهد [۲۲]. همچنین کاهش ترشح استرادیول در حیوانات تخمدان‌برداری شده به افزایش بیان شدن GnRH و NPY در هیپوتالاموس می‌انجامد [۶]. نشان داده شده که ترشح AgRP به میمون و موش صحرایی تخمدان‌برداری شده به ترتیب باعث کاهش آزاد شدن پالسی LH و کاهش ترشح ناگهانی LH می‌شود [۱۹]. برداشتن تخمدان در این حیوانات باعث کاهش استرادیول می‌شود که به نوبه خود سبب افزایش بیان شدن AgRP می‌شود.

بنابراین مطالعه حاضر هم‌بیان شدن هورمون مهار کننده گونادوتروپین و پپتید وابسته به آگوتی در نورون‌های هسته کمانی هیپوتالاموس میش را نشان داد که نقش احتمالی این دو پپتید را در چرخه تولیدمثلی میش بیان می‌کند. همچنین این پژوهش نشان داد که استروئیدهای تخمدانی بر بیان شدن این دو پپتید در هسته کمانی هیپوتالاموس میش موثر هستند و پلی بین هموستاز انرژی و تولیدمثل در میش باشند.

سپاسگزاری

نویسندگان مقاله از همکاری کارمندان مزرعه وری بی دانشگاه موناخ استرالیا سپاسگزاری می‌کنند.

References

- [1] Acosta-Martinez M, Horton T, Levine JE, Estrogen receptors in neuropeptide Y neurons: at the crossroads of feeding and reproduction. *Trends Endocrinol Metab* 18 (2007) 48-50.
- [2] Adam CL, Archer ZA, Findlay PA, Thomas L, Marie M, Hypothalamic gene expression in sheep for cocaine- and amphetamine-regulated transcript, pro-opiomelanocortin, neuropeptide Y, agouti-related peptide and leptin receptor and responses to negative energy balance. *Neuroendocrinology* 75 (2002) 250-256.
- [3] Bentley GE, Perfito N, Ukena K, Tsutsui K, Wingfield JC, Gonadotropin-inhibitory peptide in song sparrows (*Melospiza melodia*) in different reproductive conditions, and in house sparrows (*Passer domesticus*) relative to chicken-gonadotropin-releasing hormone. *J Neuroendocrinol* 15 (2003) 794-802.
- [4] Butera PC, Estradiol and the control of food intake. *Physiol Behav* 99 (2010) 175-180.
- [5] Clarke IJ, Sari IP, Qi Y, Smith JT, Parkinson HC, Ubuka T, Iqbal J, Li Q, Tilbrook A, Morgan K, Pawson AJ, Tsutsui K, Millar RP, Bentley GE, Potent action of RFamide-related peptide-3 on pituitary gonadotropes indicative of a hypophysiotropic role in the negative regulation of gonadotropin secretion. *Endocrinology* 149 (2008) 5811-5821.
- [6] Clegg DJ, Brown LM, Zigman JM, Kemp CJ, Strader AD, Benoit SC, Woods SC, Mangiaracina M, Geary N, Estradiol-dependent decrease in the orexigenic potency of ghrelin in female rats. *Diabetes* 56 (2007) 1051-1058.
- [7] Cumming IA, Brown JM, Goding JR, Bryant GD, Greenwood FC, Secretion of prolactin and luteinizing hormone at oestrus in the ewe. *J Endocrinol* 54 (1972) 207-213.
- [8] Dardente H, Birnie M, Lincoln GA, Hazlerigg DG, RFamide-related peptide and its cognate receptor in the sheep: cDNA cloning, mRNA distribution in the hypothalamus and the effect of photoperiod. *J Neuroendocrinol* 20 (2008) 1252-1259.
- [9] Goodman RL, Lehman MN, Smith JT, Coolen LM, de Oliveira CVR, Jafarzadehshirazi MR, Pereira A, Iqbal J, Caraty A, Ciofi P, Clarke IJ, Kisspeptin Neurons in the Arcuate Nucleus of the Ewe Express Both Dynorphin A and Neurokinin B. *Endocrinology* 148 (2007) 5752-5760.
- [10] Guy J, Li S, Pelletier G, Studies on the physiological role and mechanism of action of neuropeptide Y in the regulation of luteinizing hormone secretion in the rat. *Regul Pept* 23 (1988) 209-216.
- [11] Hill JW, Elmquist JK, Elias CF, Hypothalamic pathways linking energy balance and reproduction. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 294 (2008) E827-832.
- [12] Hinuma S, Shintani Y, Fukusumi S, Iijima N, Matsumoto Y, Hosoya M, Fujii R, Watanabe T, Kikuchi K, Terao Y, Yano T, Yamamoto T, Kawamata Y, Habata Y, Asada M, Kitada C, Kurokawa T, Onda H, Nishimura O, Tanaka M, Ibata Y, Fujino M, New neuropeptides containing carboxy-terminal RFamide and their receptor in mammals. *Nat Cell Biol* 2 (2000) 703-708.
- [13] Kalra SP, Mandatory neuropeptide-steroid signaling for the preovulatory luteinizing hormone-releasing hormone discharge. *Endocr Rev* 14 (1993) 507-538.
- [14] Krasnow SM, Steiner RA: Physiological mechanisms integrating metabolism and reproduction; in Neill JD (ed) Knobil and Neills Physiology of reproduction. St. Louis, MO, USA, **Academic Press**, 2006, pp 2587.
- [15] Kriegsfeld LJ, Mei DF, Bentley GE, Ubuka T, Mason AO, Inoue K, Ukena K, Tsutsui K, Silver R, Identification and characterization of a gonadotropin-inhibitory system in the brains of mammals. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103 (2006) 2410-2415.
- [16] Luquet S, Perez FA, Hnasko TS, Palmiter RD, NPY/AgRP neurons are essential for feeding in adult mice but can be ablated in neonates. *Science* 310 (2005) 683-685.
- [17] Montgomery GW, Martin GB, Pelletier J, Changes in pulsatile LH secretion after ovariectomy in Ile-de-France ewes in two seasons. *J Reprod Fertil* 73 (1985) 173-183.
- [18] Rawlings NC, Bartlewski PM: Clinical reproductive physiology of ewes; in Youngquist RS, Threlfall WR (eds): Current therapy in large animal theriogenology. St. Louis, Missouri, **Saunders**, 2007, pp 642-649.
- [19] Schioth HB, Kakizaki Y, Kohsaka A, Suda T, Watanobe H, Agouti-related peptide prevents steroid-induced luteinizing hormone and prolactin surges in female rats. *Neuroreport* 12 (2001) 687-690.

- [20] Smith JT, Coolen LM, Kriegsfeld LJ, Sari IP, Jaafarzadehshirazi MR, Maltby M, Bateman K, Goodman RL, Tilbrook AJ, Ubuka T, Bentley GE, Clarke IJ, Lehman MN, Variation in kisspeptin and RFamide-related peptide (RFRP) expression and terminal connections to gonadotropin-releasing hormone neurons in the brain: a novel medium for seasonal breeding in the sheep. *Endocrinology* 149 (2008) 5770-5782.
- [21] Stütz AM, Morrison CD, Argyropoulos G, The Agouti-related protein and its role in energy homeostasis. *Peptides* 26 (2005) 1771-1781.
- [22] Titolo D, Cai F, Belsham DD, Coordinate regulation of neuropeptide Y and agouti-related peptide gene expression by estrogen depends on the ratio of estrogen receptor (ER) alpha to ERbeta in clonal hypothalamic neurons. *Mol Endocrinol* 20 (2006) 2080-2092.
- [23] Tsutsui K, A new key neurohormone controlling reproduction, gonadotropin-inhibitory hormone (GnIH): Biosynthesis, mode of action and functional significance. *Prog Neurobiol* 88 (2009) 76-88.
- [24] Tsutsui K, Saigoh E, Ukena K, Teranishi H, Fujisawa Y, Kikuchi M, Ishii S, Sharp PJ, A novel avian hypothalamic peptide inhibiting gonadotropin release. *Biochem Biophys Res Commun* 275 (2000) 661-667.
- [25] Tsutsui K, Saigoh E, Yin H, Ubuka T, Chowdhury VS, Osugi T, Ukena K, Sharp PJ, Wingfield JC, Bentley GE, A new key neurohormone controlling reproduction, gonadotropin-inhibitory hormone in birds: discovery, progress and prospects. *J Neuroendocrinol* 21 (2009) 271-275.
- [26] Turi GF, Liposits Z, Moenter SM, Fekete C, Hrabovszky E, Origin of neuropeptide Y-containing afferents to gonadotropin-releasing hormone neurons in male mice. *Endocrinology* 144 (2003) 4967-4974.
- [27] Ubuka T, Morgan K, Pawson AJ, Osugi T, Chowdhury VS, Minakata H, Tsutsui K, Millar RP, Bentley GE, Identification of human GnIH homologs, RFRP-1 and RFRP-3, and the cognate receptor, GPR147 in the human hypothalamic pituitary axis. *PLoS One* 4 (2009) e8400.
- [28] Ubuka T, Ukena K, Sharp PJ, Bentley GE, Tsutsui K, Gonadotropin-inhibitory hormone inhibits gonadal development and maintenance by decreasing gonadotropin synthesis and release in male quail. *Endocrinology* 147 (2006) 1187-1194.
- [29] Vulliemoz NR, Xiao E, Xia-Zhang L, Wardlaw SL, Ferin M, Central infusion of agouti-related peptide suppresses pulsatile luteinizing hormone release in the ovariectomized rhesus monkey. *Endocrinology* 146 (2005) 784-789.