Effects of Dopamine and L-dopa on Ghrelin Gene Expresion in the Hypothalamus and Ovary in a Polycystic Ovarian Syndrome Rat Model

Leila Nezhaddadgar[1], Fariba Mahmoudi[2], Homayoun Khazali[3]

1.MSc student, Department of Biology / Faculty of Science, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran. ORCID ID: 0000-0001-5647-6882

2.Associate Professor, Department of Biology / Faculty of Science, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran, (Corresponding Author), Tel: +98-45-31505193, Email: f.mahmoudi@uma.ac.ir. ORCID ID: 0000-0001-6092-1352

3.Associate Professor, Department of Animal Sciences and Marine Biology, Faculty of Life Sciences and Biotechnology, Shahid Beheshti University, Tehran, IranORCID ID: 0000-0002-3231-0463

ABSTRACT

Background and Aim: In healthy people, dopamine stimulates ghrelin secretion. The level of dopamine release and ghrelin is lower in the patients with polycystic ovary syndrome (PCOS). In the present study,we investigated the effects of doplamin and L-dopa on relative gene expression of ghrelin in PCOS model rats.

Materials and Methods: In the first_step of the study, PCOS was induced in 25 female Wistar rat (*Rattus norvegicus*) by injection of estradiol. Then, the rats received saline, dopamine (5µg), L-dopa (5µg) or simultaneous injections of sulpride (10µg/kg), SCH23390 hydrochloride (10µg/kg) and dopamine or L-dopa respectively via third cerebral ventricular. In the second part of the study, 15 PCOS rats received saline L-dopa (100mg/kg) or dopamine (50mg/kg) intraperitoneally. Hypothalamic and ovarian samples were dissected. Mean relative ghrelin gene expression was determined by real- time-PCR method.

Results: Mean relative gene expression of ghrelin significantly decreased in the hypothalamus and ovary of the rats with PCOS compared to those in the intact rats. Intraventricular injection of dopamine or L-dopa significantly increased the hypothalamic ghrelin gene expression in comparison to that in the rats in the PCOS group. Dopamine or L-dopa did not significantly increase the gene expression of ovarian ghrelin in comparison to that in PCOS group. Injections of sulpride and SCH23390 significantly blocked the stimulatory effects of dopamine or L-dopa on the ghrelin gene expression in hypothalamus compared to those in the dopamine or L-dopa group.

Conclusion: The dopaminergic pathway may be involved in increasing ghrelin gene expresion extremely via hypothamic level in PCOS condition.

Keywords: Dopamine, L-dopa, Ghrelin, Polycystic ovary syndrome.

Received: Mar 21, 2022 **Accepted:** Nov 28, 2022

How to cite the article: Leila Nezhaddadgar, Fariba Mahmoudi, Homayoun Khazali. Effects of Dopamine and L-dopa on Ghrelin Gene Expresion in the Hypothalamus and Ovary in a Polycystic Ovarian Syndrome Rat Model.ŚJKU 2024;28(6):1-11.

Copyright © 2018 the Author (s). Published by Kurdistan University of Medical Sciences. This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-Non Commercial License 4.0 (CCBYNC), where it is permissible to download, share, remix, transform, and buildup the work provided it is properly cited. The work cannot be used commercially without permission from the journal

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-02-14]

[DOI: 10.61186/sjku.28.6.1]

اثرات دوپامین و ال‌دوپا بر بیان ژن *گرلین* در هیپوتالاموس و تخمدان در مدل موش صحرایی سندروم تخمدان پلی‌کیستیک

لیلا نژاددادگر[۱]، فریبا محمودی[۲]، همایون خزعلی[۳]

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه زیست شناسی/دانشکده علوم، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران. کد ارکید: ۶۸۸۲-۵۶۴۷-۰۰۰۱- ۰۰۰۰

۲. دانشیار، گروه زیست شناسی/دانشکده علوم، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران، پست الکترونیک: f.mahmoudi@uma.ac.ir، **تلفن:** ۰۴۵-۳۱۵۰۵۳۹۴ ، کد ارکید: ۱۳۵۲-۶۰۹۲-۰۰۰۱-۰۰۰۰

۳. دانشیار، گروه علوم جانوری و زیست شناسی دریا، دانشکده علوم و فناوری های زیستی ، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران کد ارکید: ۰۴۶۳-۳۲۳۱-۰۰۰۲-۰۰۰۰

چکیده

زمینه و هدف در افراد سالم دوپامین اثرات تحریکی بر ترشح گرلین دارد. سطوح آزادسازی دوپامین و گرلین در افراد مبتلا به سندروم تخمدان پلی‌کیستیک(PCOS) پایین‌تر است. در تحقیق حاضر، اثرات دوپامین و ال‌دوپا بر بیان ژن *گرلین* در موش‌های صحرایی PCOS بررسی شد.

مواد و روش‌ها: در قسمت اول تحقیق، در ۲۵ موش‌صحرایی ماده از نژاد ویستار (*Rattus norvegicus*) با تزریق استرادیول PCOS ایجاد شد. سپس، موش‌های صحرایی PCOS به ترتیب سالین، ۵میکروگرم دوپامین، ۵میکروگرم ال‌دوپا یا تزریق همزمان ۱۰ میکروگرم سولپرید، ۱۰ میکروگرم SCH23390 و ۵ میکروگرم دوپامین یا ال‌دوپا را از طریق بطن سوم مغزی دریافت کردند. در قسمت دوم تحقیق، ۱۵ موش صحرایی PCOS به ترتیب سالین، ۱۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم ال دوپا یا ۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم دوپامین را به طور داخل صفاقی دریافت کردند. تخمدان و هیپوتالاموس‌ها جداسازی شدند. بیان ژن *گرلین* با روش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز در زمان واقعی (ریل تایم-PCR) اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: میانگین بیان نسبی ژن *گرلین* در هیپوتالاموس و تخمدان گروه PCOS نسبت به موش‌های صحرایی سالم کاهش معنی‌دار پیدا کرد. تزریق داخل مغزی دوپامین یا ال‌دوپا سبب افزایش معنی‌دار بیان ژن *گرلین* در هیپوتالاموس در مقایسه با گروه PCOS شد. تزریق داخل صفاقی دوپامین یا ال‌دوپا بیان ژن *گرلین* را در تخمدان در مقایسه با گروه PCOS به طور معنی‌داری افزایش نداد. تزریق سولپرید و SCH23390 اثرات تحریکی دوپامین یا ال‌دوپا بر بیان ژن *گرلین* در هیپوتالاموس را در مقایسه با گروه دوپامین یا ال‌دوپا بلوکه کرد.

نتیجه‌گیری: مسیر دوپامینرژیکی ممکن است به طور عمده از طریق سطح هیپوتالاموسی، در افزایش بیان ژن *گرلین* در شرایط PCOS دخالت داشته باشد.

کلمات کلیدی: دوپامین، ال‌دوپا، گرلین، سندروم تخمدان پلی‌کیستیک

وصول مقاله:۱۴۰۱/۱/۳۱ اصلاحیه نهایی:۱۴۰۱/۹/۲ پذیرش:۱۴۰۱/۹/۷

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-02-14]

[DOI: 10.61186/sjku.28.6.1]

مقدمه

سندروم تخمدان پلی‌کیستیک (Polycystic Ovary Syndrome, PCOS) یکی از مهم‌ترین اختلالات تولیدمثل و غالب‌ترین دلیل اختلال در تخمک‌گذاری و ناباروری زنان است. تظاهرات اصلی PCOS هیپرآندروژنیسم، مقاومت به انسولین و اختلال در تولیدمثل و سوخت‌وساز بدن است (۱). اختلال در ترشح هورمون آزادکننده گنادوتروپین‌ها(Gonadotropin Releasing Hormone, GnRH) و هورمون لوتئینه(Luteinizing Hormone, LH) یکی از مهم‌ترین دلایل ناباروری و عدم تخمک‌گذاری در PCOS است (۱). ترشح خود این هورمون‌ها تحت کنترل بسیاری از هورمون‌های محیطی و نوروپپتیدهای داخل هیپوتالاموسی در بالادست نورون‌های GnRH از جمله گرلین و دوپامین است.

دوپامین یکی از مهم‌ترین نوروترانسمیترهای کاتاکول آمینی مغز است که هنگام تزریق محیطی به علت عدم توانایی عبور از سد خونی- مغزی نمی‌تواند به طور مستقیم بر روی فعالیت نورون‌های داخل هیپوتالاموسی اثر بگذارد درحالی‌که پیش‌سازهای دوپامین (تیروزین یا ال دوپا)، آگونیست‌ها و آنتاگونیست‌های سنتتیک دوپامین توانایی عبور از سد خونی- مغزی را دارند (۲). نورون‌های دوپامینرژیکی در نواحی مختلف مغز از جمله در هیپوتالاموس در هسته‌های دور بطنی و قوسی قرارگرفته است و انشعابات آکسون نورون‌های دوپامینرژیک به نواحی متعدد مغز ارسال می‌شود (۳). اثرات دوپامین در سیستم عصبی مرکزی توسط گیرنده‌های خانواده D_1-like و D_2-like میانجیگری می‌شود که D_1 و D_5 جزء خانواده D_1-like هستند و D_2 و D_3 و D_4 جزو خانواده D_2-like هستند (۵-۴). مطالعات پیشین نشان داده است که هر دو گروه گیرنده D_1-like و D_2-like دوپامین بر روی ۵۰٪ نورون‌های GnRH بیان می‌شوند و دوپامین از طریق هر دو گروه گیرنده در مهار فعالیت محور هیپوتالاموس- هیپوفیز- گنادها نقش دارد(۲). به عبارتی دوپامین در اعمال اثرات خود بر محور تولیدمثلی از اثرات هم افزایی مسیرهای پیام رسانی مربوط به هر دو گروه گیرنده خود استفاده می کند به همین دلیل در این تحقیق از آنتاگونیست هر دو گروه گیرنده استفاده شده است. (۲). ال‌دوپا، از ال‌تیروزین توسط آنزیم تیروزین‌هیدروکسیلاز تولید می‌شود و آن به‌راحتی از سد خونی- مغزی عبور می‌کند. هنگامی‌که ال‌دوپا وارد سیستم عصبی مرکزی می‌شود توسط آنزیم ال‌آمینواسید دهیدروکسیلاز به دوپامین تبدیل می‌شود. علاوه بر سیستم عصبی مرکزی، ال‌دوپا در سیستم عصبی محیطی نیز به دوپامین تبدیل می‌شود(۶).

گرلین پپتید ۲۸ اسیدآمینه‌ای است که به‌طور عمده در معده و هیپوتالاموس سنتز شده و آن از طریق اتصال به گیرنده GHS-R1a اثرات فیزیولوژیکی خود را اعمال می‌کند (۷). همچنین، گرلین و گیرنده آن در تخمدان بیان می‌گردد که این یافته پیشنهاد می‌کند که گرلین علاوه بر اثرات مرکزی ممکن است به‌طور موضعی و محیطی در کنترل عملکرد تخمدان دخالت داشته باشد (۷). گرلین اثرات مهاری بر فعالیت محور تولیدمثلی داشته و سبب مهار ترشح هورمون-های GnRH و LH می‌شود (۷). همچنین در تایید اثرات مهاری گرلین بر فعالیت محور تولیدمثلی در جوندگان نشان داده شده است که گرلین کمترین سطح بیان را در فاز پرواستروس و بیشترین سطح بیان را در فاز دی استروس(که در این فاز ترشح هورمون‌هایGnRH و LH پایین‌تر است) دارد (۸-۷). یکی از دلایل اصلی اختلال در ناباروری افراد PCOS، بالاتر بودن میزان ترشح هورمون‌های GnRH و LH می باشد. همچنین در افراد PCOS ثابت شده است که سطوح پلاسمایی گرلین پایین‌تر می‌باشد (۹-۷) و دوپامین اثرات مهاری بر ترشح هورمون‌های GnRH/LH دارد (۲). همچنین در موش‌های صحرایی نر سالم نشان داده شده است که دوپامین سبب تحریک ترشح گرلین می‌گردد (۱۰). افزایش ترشح هورمون لوتئینه‌کننده(LH) یا افزایش نسبت هورمون لوتئینه‌کننده(LH) به هورمون محرک فولیکولی (FSH) یکی از مهم‌ترین دلایل در ایجاد سندروم تخمدان

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-02-14]

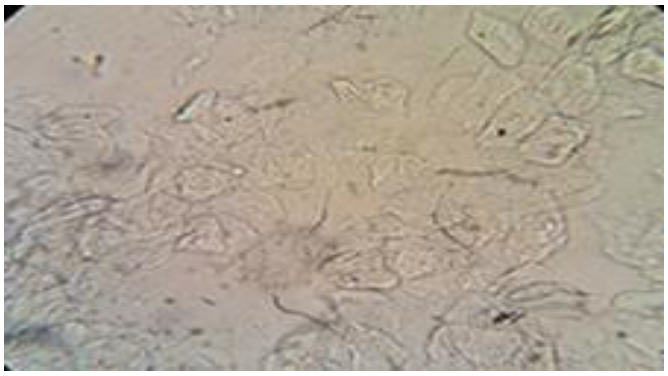
[DOI: 10.61186/sjku.28.6.1]

پلی‌کیستیک است و دوپامین و گرلین هر دو سبب مهار ترشح هورمون LH می گردند (۲، ۷). از طرفی بر طبق در تحقیق گومز و همکارانش در زنان PCOS نشان داده شده است که آزادسازی میزان دوپامین کاهش می‌یابد(۱۱). بنابراین، با توجه به کاهش آزادسازی دوپامین و کاهش ترشح گرلین در زنان PCOS و نقش تحریکی دوپامین بر ترشح گرلین در موش‌های صحرایی نر، در تحقیق حاضر اثرات دوپامین و ال دوپا برای اولین بار بر بیان ژن *گرلین* در موش‌های صحرایی PCOS بررسی شد تا مشخص گردد که آیا افزایش فعالیت مسیر دوپامینرژیکی ممکن است از طریق افزایش بیان ژن *گرلین* در کاهش ترشح هورمون LH در افراد PCOS دخالت داشته باشد.

مواد و روش‌ها

واحدهای آزمایشی: این پژوهش از نوع تجربی است و در سال ۱۴۰۰ در آزمایشگاه فیزیولوژی جانوری دانشکده علوم دانشگاه محقق اردبیلی انجام شد. برای انجام این تحقیق، ۵۰ موش صحرایی ماده نژاد ویستار به وزن ۱۷۰ تا ۲۰۰ گرم خریداری شده از مرکز تحقیقات علوم اعصاب دانشگاه شهید بهشتی مورد استفاده قرار گرفت. حیوانات در تمامی مدت آزمایش، به آب و غذای مخصوص موش صحرایی دسترسی کامل داشتند. دمای محل نگهداری حیوانات ۲ ± ۲۲ درجه‌ی سانتی‌گراد بود و حیوانات همواره تحت دوره‌ی نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی قرار داشتند.

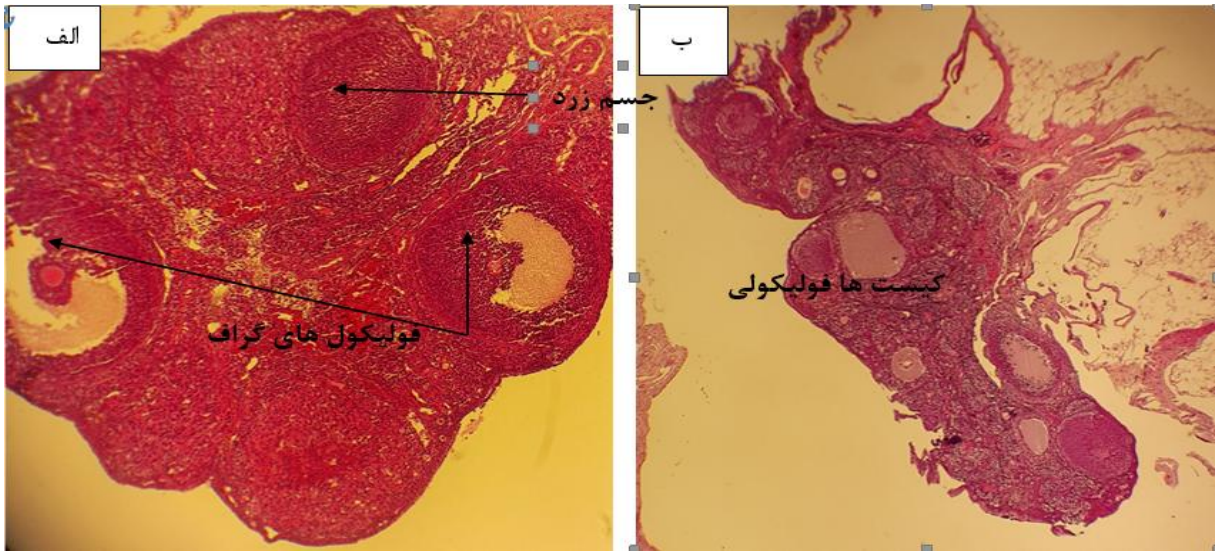
بررسی واژیناسیون و القای سندروم تخمدان پلی-کیستیک: با بررسی نمونه‌های واژنی موش‌های صحرایی دو دور سیکل استروس مرتب به ترتیب پرو استروس، استروس، مت استروس و دی استروس مشاهده شد. برای القای PCOS، حیوانات در مرحله استروس، استرادیول والرات(پودر تهیه شده از شرکت ابوریحان، ایران) با دوز ۲ میلی‌گرم در ۰/۲ میلی‌لیتر روغن کنجد (شرکت باریج اسانس، ایران) را به صورت تزریق داخل عضلانی دریافت کردند. گروه کنترل سالم تزریق داخل عضلانی ۰/۲ میلی‌لیتر روغن کنجد را دریافت نمود. القای PCOS از روز ۳۰ بعد از تزریق استرادیول والرات بر اساس بررسی‌های واژیناسیون و مشاهده مرحله استروس پایدار و همچنین با برش‌گیری از تخمدان تعدادی از از نمونه های تخمدانی و رنگ آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین مورد تایید قرار گرفت (۱۲) (شکل‌های ۱و ۲). در روز یک و روز ۶۰ بعد از تزریق استرادیول والرات وزن حیوانات سالم و PCOS تعیین گردید.



شکل ۱. مرحله استروس پایدار با مشاهده سلول های شاخی در اسمیر واژنی

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-02-14]

[DOI: 10.61186/sjku.28.6.1]



شکل۲. برشی از تخمدان. الف.تخمدان سالم، ب. تخمدان سندروم پلی کیستیک

کانول گذاری داخل بطنی و عمل تزریق: حیوانات با تزریق داخل صفاقی مخلوطی از ۸۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن از کتامین (شرکت آلفاسان، هلند) و ۱۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن از زایلزین (شرکت آلفاسان، هلند) بیهوش شدند. کانول ساخته شده از سرسرنگ تزریقی gauge ۲۲ با استفاده از دستگاه استرئوتاکسیک (Stoelting Co, USA) و با کمک سه عدد پیچ عینک و سیمان دندانپزشکی در سطح جمجمه تثبیت شد. بر اساس اطلس واتسون و پاکسینوس، نوک کانول در مختصات بطن سوم(AP =-۰/۸۴، ML =۰۰، DV =۶/۵) قرار گرفت (۱۰). حیوانات بعد از جراحی به قفسهای انفرادی برگردانده شدند و به آنها یک هفته اجازه بهبودی داده شد. در بخش اول آزمایش، ۲۵ موش صحرایی PCOS در ۵ گروه ۵تایی به ترتیب سالین، ۵ میکروگرم دوپامین(شرکت سیگما، آمریکا)، ۵ میکروگرم ال دوپا(شرکت سیگما، آمریکا)، تزریق همزمان ۱۰ میکروگرم سولپرید(شرکت سیگما، آمریکا)، ۱۰ میکروگرم SCH23390 هیدروکلراید(شرکت سیگما، آمریکا) و دوپامین یا تزریق همزمان ۱۰ میکروگرم سولپرید، ۱۰ میکروگرم SCH23390 هیدروکلراید و ال‌دوپا را از طریق تزریق درون بطن سوم مغزی در حجم ۳ میکرولیتر با استفاده از سرسرنگ دندانپزشکی gauge ۲۷ دریافت کردند که از طریق لوله رابط پلی اتیلنی به سرنگ هامیلتون ۵ میکرولیتری وصل شده بود. پنج موش صحرایی سالم در یک گروه به عنوان گروه کنترل سالم ۳ میکرولیتر سالین را از طریق تزریق داخل بطن سوم مغزی دریافت کردند. در بخش دوم آزمایش، همچنین ۱۵ موش صحرایی PCOS در ۳ گروه ۵تایی به ترتیب سالین، ۱۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن ال‌دوپا (شرکت سیگما، آمریکا) یا ۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن دوپامین (شرکت سیگما، آمریکا) را به صورت تزریق داخل صفاقی در حجم ۰/۵ میلی‌لیتر دریافت کردند. پنج موش صحرایی سالم در یک گروه به عنوان گروه کنترل سالم ۰/۵ میلی‌لیتر سالین را از طریق تزریق داخل صفاقی دریافت کردند. تزریق داروها در ساعت ۹:۳۰-۹:۰۰ به مدت دو هفته انجام شد. دوز داروها بر اساس تحقیقات پیشین ن انتخاب شده است (۱۰، ۱۲) .در گروه هایی که تزریق داخل صفاقی داروها را دریافت کرده یودند بیان نسبی ژن *گرلین* در تخمدان بررد. در گروه هایی که تزریق داخل بطن سوم مغزی داروها را دریافت کرده بودند بیان نسبی ژن *گرلین* در هیپوتالاموس بررسی شد.

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-02-14]

[DOI: 10.61186/sjku.28.6.1]

جداسازی هیپوتالاموس و تخمدان: بعد از بیهوشی حیوانات با تزریق داخل صفاقی مخلوطی از کتامین و زایلزین، نمونه‌های هیپوتالاموسی و تخمدان‌ها بلافاصله جداسازی و فریز شدند. برای منجمد کردن سریع نمونه‌های بافتی از نیتروژن مایع استفاده گردید. سپس نمونه‌ها در فریزر ۸۰- درجه سانتیگراد تا زمان استخراج RNA نگهداری شد.

بررسی میزان بیان ژن با استفاده از روش Realtime-PCR: نمونه‌های هیپوتالاموسی و تخمدان با استفاده از Purezol هوموژن شدند و RNA مطلق نمونه ها بر اساس روش گوانیدین تیوسیانات- فنل- کلروفرم بر طبق دستورالعمل کیت Purezol (Bio Rad co, U.S.A.) استخراج شد. یک میکروگرم از RNA برای سنتز cDNA بر طبق دستورالعمل کیت (Vivantis Co., Malaysia) مورد استفاده قرار گرفت. پس از سنتز cDNA قطعه مورد نظر ژن‌ها بر حسب دستورالعمل کیت مستر میکس سایبرگرین (شرکت تاکارا، ژاپن) و با استفاده از دستگاه ریل تایم پی سی آر روتر ژن مدل ۶۰۰۰ (Rotor Gene 6000, Corbette, Korea) تکثیر شدند. برنامه زمانی برای واکنش پی‌سی‌آر کمی شامل یک چرخه (°C ۹۵ برای ۲ دقیقه) و ۴۰ چرخه(°C ۹۵ برای ۵ ثانیه، °C ۶۰ به مدت ۲۰ ثانیه و °C ۷۲ برای ۲۰ ثانیه) بود. پرایمرها از شرکت ژن فناوران ایران تهیه شدند. توالی‌های الیگونوکلئوتیدی ویژه برای پرایمرهای سنس و آنتی‌سنس GAPDH و گرلین در جدول ۱ نشان داده شده است. محصولات GAPDH و گرلین حاصل به ترتیب ۱۲۰ و ۱۳۲ جفت باز هستند. در تحقیق حاضر از ژن کنترل گلیسر آلدئید ۳-فسفات دهیدروژناز (GAPDH) به عنوان ژن کنترل استفاده شد و روش محاسبه تغییران میزان بیان ژن بر اساس روش لیواک یعنی کمیت سنجی نسبی بوده است. میزان بیان mRNA گرلین با استفاده از رنگ سایبر گرین و به کارگیری میزان تکثیر نمونه‌ها (Ct) نسبت به میزان تکثیر ژن کنترل (Ct) بر طبق روش دلتا دلتا سی تی و به کارگیری فرمول $2^{-\Delta\Delta Ct}$ محاسبه شدند (۱۴-۱۳).

تجزیه و تحلیل آماری: توزیع نرمال داده‌های حاصل از فرمول $2^{-\Delta\Delta Ct}$ با استفاده از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف با استفاده از نرم‌افزار SPSS بررسی و تایید شد. سپس، داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS و با استفاده از آزمون آنوای یک طرفه آنالیز شدند. مقایسه میانگین داده‌ها توسط آزمون تعقیبی توکی انجام شد. همچنین نتایج مربوط به وزن حیوانات PCOS در مقایسه با گروه کنترل سالم با استفاده از آزمون T- تست جفت نشده آنالیز شد. نتایج حاصل به صورت میانگین ± خطای استاندارد میانگین(±) SEM ارائه شدند. در تمام آنالیزهای آماری نتایج با ۰/۰۵ ≥pمعنی‌دار گزارش شدند.

جدول ۱. توالی پرایمرها.

پرایمر	توالی در جهت ' ۵ به ' ۳(از چپ به راست)
سنس گرلین	AATGCTCCCTTCGATGTTGG
آنتی‌سنس گرلین	CAGTGGTTACTTGTTAGCTGG
سنس GAPDH	AAGTTCAACGGCACAGTCAAG
آنتی‌سنس GAPDH	CATACTCAGCACCAGCATCAC

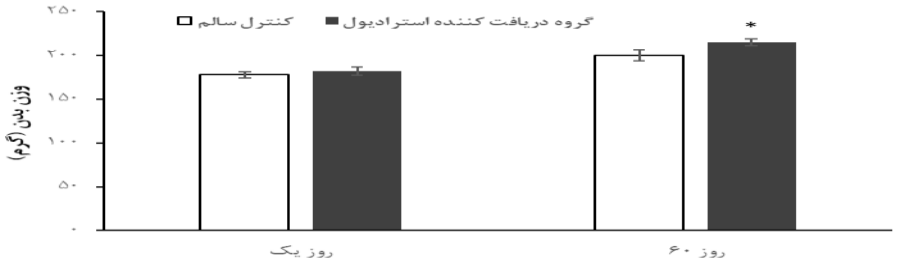
یافته‌ها

بین میانگین وزن بدن در روز یک در گروه دریافت کننده استرادیول والرات در مقایسه با گروه کنترل سالم تفاوت معنی‌دار وجود نداشت. میانگین وزن بدن در روز ۶۰ در گروه‌های دریافت کننده استرادیول والرات در مقایسه با گروه کنترل سالم از نظر آماری تفاوت معنی دار پیدا کرد(p=۰/۰۰۰)(نمودار ۱). میانگین بیان نسبی ژن *گرلین* در هیپوتالاموس گروه PCOS در مقایسه با گروه کنترل سالم

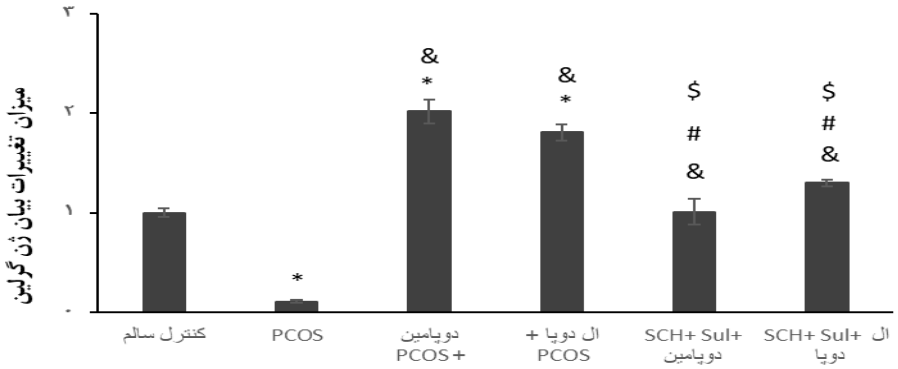
[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-02-14]

[DOI: 10.61186/sjku.28.6.1]

کاهش یافت که این میزان کاهش از نظر آماری معنی دار بود (p=۰/۰۰۰)(نمودار ۲) بیان ژن *گرلین* در گروه‌های PCOS دریافت‌کننده تزریق داخل بطن سوم مغزی دوپامین یا ال دوپا در مقایسه با گروه PCOS افزایش یافت که این میزان افزایش در هر دو گروه از نظر آماری معنی‌دار بود (p=۰/۰۰۰)(نمودار۲). ولی میزان بیان آن در گروه PCOS دریافت‌کننده تزریق داخل بطن سوم مغزی ال دوپا در مقایسه با گروه PCOS دریافت‌کننده دوپامین تغییر معنی-داری پیدا نکرد (p=۰/۴۹۷)(نمودار ۲). بیان ژن *گرلین* در گروه PCOS دریافت‌کننده تزریق همزمان سولپرید، SCH23390 هیدروکلراید و دوپامین یا ال‌دوپا در مقایسه با گروه PCOS دریافت‌کننده دوپامین از نظر آماری به طور معنی‌داری کاهش یافت (p=۰/۰۰۰ یا p=۰/۰۱۲) (نمودار۲). میانگین بیان نسبی ژن *گرلین* در تخمدان گروه PCOS در مقایسه با گروه کنترل سالم کاهش یافت که این میزان کاهش از نظر آماری معنی‌دار بود(p=۰/۰۰۰)(نمودار ۳). تزریق داخل صفاقی ال‌دوپا یا دوپامین به موش‌های صحرایی PCOS بیان ژن *گرلین* در تخمدان را در مقایسه با گروه PCOS از نظر آماری به طور معنی‌داری افزایش نداد(p=۰/۳۹۵ و p=۰/۱۱۱)(نمودار ۳).



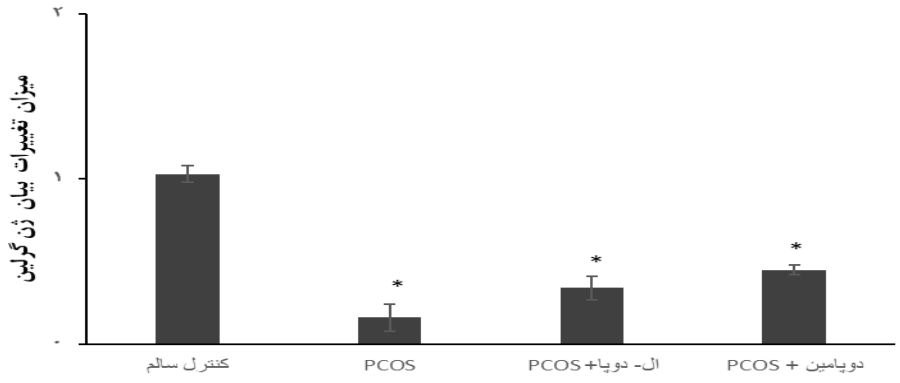
نمودار ۱. میانگین وزن بدن در روزهای یک و ۶۰ در گروه دریافت کننده استرادیول والرات در مقایسه با گروه کنترل سالم. *: در مقایسه با کنترل سالم.



نمودار۲. اثرات تزریق داخل بطن سوم مغزی دوپامین، ال‌دوپا یا تزریق همزمان دوپامین، ال‌دوپا، سولپرید و SCH23390 هیدروکلراید(SCH) بر میزان تغییرات بیان ژن *گرلین* در هیپوتالاموس موش‌های صحرایی مدل PCOS. داده‌ها با استفاده از آزمون آنوای یک طرفه آنالیز شدند. مقایسه میانگین داده‌ها توسط آزمون تعقیبی توکی انجام شد. تعداد نمونه‌ها در هر گروه ۵ بوده و نتایج به‌صورت میانگین ±SEM ارائه شده است. P≤۰/۰۵ از نظر آماری معنی‌دار گزارش‌شده است.*: در مقایسه با گروه کنترل سالم، +: در مقایسه با گروه PCOS، #: درمقایسه با گروه دوپامین+ PCOS، ‡: درمقایسه با گروه ال‌دوپا+ PCOS

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-02-14]

[DOI: 10.61186/sjku.28.6.1]



نمودار۳. اثرات تزریق داخل صفاقی ال‌دوپا و دوپامین بر میزان تغییرات بیان ژن *گرلین* در تخمدان موش‌های صحرایی مدل PCOS. داده‌ها با استفاده از آزمون آنوای یک طرفه آنالیز شدند. مقایسه میانگین داده‌ها توسط آزمون تعقیبی توکی انجام شد. تعداد نمونه‌ها در هر گروه ۵ بوده و نتایج به‌صورت میانگین ±SEM ارائه شده است. P≤۰/۰۵ از نظر آماری معنی‌دار گزارش شده است.*: در مقایسه با گروه کنترل سالم.

بحث

نتایج حاصل از تحقیق حاضر نشان داد که میانگین بیان نسبی ژن *گرلین* در هیپوتالاموس و تخمدان موش‌های صحرایی مبتلا به سندروم تخمدان پلی‌کیستیک(PCOS) نسبت به موش‌های صحرایی سالم کاهش یافت. نتایج حاصل منطبق بر مطالعات پیشین است. در سال ۲۰۰۴، نشان داده شد که سطوح پلاسمایی هورمون گرلین در زنان مبتلابه PCOS نسبت به زنان سالم کاهش چشمگیری پیدا کرد (۱۵، ۹). گرلین، به‌عنوان تنظیم‌کننده بالقوه مهاری در محور تولیدمثل است. ثابت شده است که گرلین از طریق مهار ترشح GnRH/ LH اثرات خود بر محور هیپوتالاموس- هیپوفیز- گنادها را اعمال می‌کند (۷). به علاوه، گرلین قادر به مهار تولید تستوسترون در داخل بدن در شرایط آزمایشگاهی است (۱۶). بنابراین یکی از دلایل احتمالی اصلی در افزایش تولید آندروژن‌ها و افزایش نسبت ترشح LH به FSH در افراد PCOS می‌تواند کاهش سنتز گرلین باشد.

یکی از فاکتورهای دخیل در کاهش سطوح گرلین می‌تواند با افزایش تولید آندروژن‌ها در افراد PCOS در ارتباط باشد. تحقیقات پیشین نشان داده است که بین گرلین و سطوح بالای آندروژن‌ها همبستگی منفی وجود دارد (۹). استفاده از داروهای ضدآندروژنی از جمله فلوتامید سبب افزایش سطوح پلاسمایی گرلین در زنان PCOS می‌گردد (۱۵). بنابراین ممکن است که سطح بالای آندروژن‌ها در موش‌های صحرایی PCOS در کاهش بیان نسبی ژن *گرلین* نقش داشته باشد.

کیس‌پپتین می‌تواند فاکتور مهم دیگر برای کاهش بیان و ترشح گرلین در افراد PCOS باشد. نشان داده شده است که بیان ژن *کیس‌پپتین* و سطوح پلاسمایی آن در PCOS افزایش می‌یابد(۱۷). از طرفی کیس‌پپتین باعث مهار ترشح گرلین می‌شود (۱۰). از این‌رو احتمال دارد که به‌دنبال افزایش بیان و ترشح کیس‌پپتین در افراد PCOS در میزان بیان ژن گرلین کاهش اتفاق افتد.

دوپامین از جمله نوروترانسمیترهای مهاری مهم در ترشح هورمون‌های GnRH/LH و هورمون‌های جنسی محسوب می‌شود (۲). تحقیقات نشان داده است که میزان آزادسازی دوپامین در بیماران PCOS کاهش می یابد (۱۱). اختلال در میزان ترشح گرلین در بیماران PCOS، آنها را در معرض ریسک بالایی از اختلالات ناشی از ترشح بیش از حد هورمون LH و آندروژن‌ها قرار می‌دهد. با توجه به اهمیت

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-02-14]

[DOI: 10.61186/sjku.28.6.1]

مسیرهای دوپامینرژیکی در تنظیم جنبه‌های مختلف فعالیت محور تولیدمثلی و اثرات مهم آن بر روی کنترل میزان ترشح هورمون‌ها، نوروپپتیدها و آنزیم‌های دخیل در فرایند تولیدمثلی، در این تحقیق برای اولین بار در موش‌های صحرایی PCOS، اثرات تزریق داخل مغزی و داخل صفاقی دوپامین، ال‌دوپا و آنتاگونیست‌های گیرنده دوپامین بر بیان نسبی ژن *گرلین* در هیپوتالاموس و تخمدان بررسی شد. نتایج حاصل از آنالیز داده‌ها نشان داد که دوپامین و ال-دوپا سبب کاهش بیان ژن *گرلین* در هیپوتالاموس شد در حالی که آنها بیان ژن *گرلین* را در تخمدان از نظر آماری به طور معنی‌داری کاهش ندادند. نتایج حاصل از اثرات دوپامین بر افزایش بیان ژن *گرلین* در هیپوتالاموس منطبق بر تحقیقات پیشین است که نشان دادند تزریق داخل مغزی دوپامین منجر به افزایش غاظت سرمی گرلین در موش‌های صحرایی نر می‌گردد (۱۰). همچنین مطالعه انجام شده در شرایط in vitro درباره اثرات دوپامین بر ترشح گرلین نشان داد که در سطح سلول‌های دودمان سلولی MGN3-1 تولیدکننده گرلین گیرنده‌های D_1 و D_2 دوپامینرژیکی بیان شده و تزریق دوپامین به محیط کشت حاوی این سلول‌ها سبب تحریک ترشح گرلین می‌شود. در این دودمان سلولی نشان داده شد که تزریق آگونیست گیرنده D_1 دوپامینی به نام فنل‌دوپام سبب تحریک ترشح گرلین می‌شود و با تزریق آنتاگونیست این گیرنده به نام SKF3566 اثرات تحریکی دوپامین بر ترشح گرلین مهار می‌شود. در حالی که با تزریق آگونیست گیرنده‌های D_2 یا D_3 دوپامینرژیکی نظیر برموکریپتین بر میزان ترشح گرلین اثری نداشت آنها با این یافته‌ها نشان دادند که اثرات دوپامین بر ترشح گرلین از طریق گیرنده نوع D_1 در این دودمان سلولی میانجیگری می‌شود (۱۸).

همچنین نشان داده شده است که تزریق نوروتوکسین دوپامینرژیکی به نام ۶ هیدروکسی دوپامین به داخل ناحیه تگمنتال شکمی افزایش میزان دریافت غذای ناشی از تزریق گرلین را مهار می‌کند (۱۹). به علاوه ثابت شده است که گیرنده GHSR1a (گیرنده گرلین) و گیرنده‌های D_1 و D_2 دوپامینرژیکی باهم هم‌مکانی دارند(۲۰). تزریق آنتاگونیست‌های گیرنده‌های D_1، D_2 و D_3 دوپامینی سبب مهار اثرات اشتهازایی گرلین در موش‌های صحرایی نر می-گردد (۲۱).در حالی که تزریق گرلین سطوح دوپامین را افزایش داده و سبب افزایش میزان دریافت غذا می‌شود (۲۲). در مجموع، این یافته‌ها تاییدکننده برهم‌کنش مسیرهای دوپامینرژیکی و گرلین در گونه‌های مختلف جانوری است.

مسیرهای پیام رسانی انسولین و آندروژن‌ها احتمال دارد در افزایش بیان ژن گرلین در هیپوتالاموس موش‌های صحرایی مبتلا به PCOS دخالت داشته باشند. . هرچند که انسولین به طورعمده توسط سلول‌های نوع بتا بخش درون‌ریز غده پانکراس سنتز می‌شود ولی بخشی از آن در دستگاه عصبی مرکزی از جمله هسته پری‌ونتریکولار هیپوتالاموس سنتز می‌شود (۲۳). دوپامین از طریق گیرنده‌های D_2 اثرات مهاری بر ترشح انسولین اعمال می‌کند. به طوری که مطالعات پیشین نشان می‌دهند که هنگام حذف ژن گیرنده D_2 در دودمان سلولی INS-1 832/13 یا در موش‌های فاقد ژن گیرنده D_2 ترشح انسولین در مقایسه با موش‌های وحشی افزایش می‌یابد (۲۴). از طرفی نشان داده شده است که انسولین سبب مهار ترشح گرلین می‌گردد (۲۵). از این‌رو کاهش سنتز انسولین با تزریق دوپامین ممکن است یکی از مکانیسم‌های احتمالی در ایجاد اثرات تحریکی دوپامین بر ترشح گرلین باشد.

با توجه به این که آندروژن‌ها اثرات مهاری بر تولید گرلین اعمال می‌کنند (۱۴). همچنین ثابت شده است که دوپامین و آگونیست‌های دوپامینی سبب مهار سنتز آندروژن ها از طریق مهار محور هیپوتالاموس- هیپوفیزی می‌شود (۲). بنابراین، کاهش آندروژن‌ها از طریق تزریق دوپامین می‌تواند یکی دیگر از مکانیسم‌های احتمالی در ایجاد اثرات تحریکی دوپامین بر بیان نسبی ژن گرلین در هیپوتالاموس باشد. از آنجا که تزریق داخل صفاقی ال‌دوپا با دوز ۱۰۰mg/kg یا

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-02-14]

[DOI: 10.61186/sjku.28.6.1]

دوپامین با دوز ۵۰ mg/kg اثرات افزایشی معنی‌داری بر بیان نسبی ژن *گرلین* در تخمدان موش‌های صحرایی PCOS اعمال نکرد. در حالی که این دوز ال‌دوپا یا دوپامین قادر به کاهش معنی‌دار هورمون‌های LH و تستوسترون در موش-های صحرایی PCOS بود (۱۲). محتمل است که مسیر دوپامینرژیکی به طور عمده اثرات خود بر کنترل سنتز گرلین را از طریق مسیرهای داخل هیپوتالاموسی تحت تاثیر قرار دهد. با این وجود، برای تعیین دقیق‌تر اثرات مسیر دوپامینرژیکی بر مسیرپیام‌رسانی گرلین در افراد سالم و PCOS، پیشنهاد می‌شود تحقیقات آتی اثرات تزریق مستقیم دوپامین یا ال‌دوپا به داخل تخمدان را با دوز استفاده شده در این تحقیق یا انتخاب مقادیر بالاتر بر بیان نسبی ژن *گرلین* در تخمدان بررسی کند.

نتیجه‌گیری

به طور خلاصه نتایج تحقیق حاضر نشان داد که میانگین بیان نسبی ژن *گرلین* در هیپوتالاموس و تخمدان موش‌های صحرایی PCOS در مقایسه با گروه کنترل سالم از نظر آماری به طور معنی‌داری کاهش یافت. تزریق داخل بطن سوم مغزی دوپامین یا ال‌دوپا سبب افزایش بیان ژن *گرلین* در هیپوتالاموس شد در حالی که تزریق داخل صفاقی دوپامین یا ال‌دوپا بیان ژن *گرلین* را در تخمدان از نظر آماری به طور معنی‌داری افزایش نداد. مسیر دوپامینرژیکی ممکن است که اثرات خود بر کنترل بیان ژن *گرلین* در افراد PCOS را به طور عمده از طریق مسیرهای داخل هیپوتالاموسی تحت تاثیر قرار دهد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان از حمایت‌های مالی و معنوی معاونت پژوهش و فناوری دانشگاه محقق اردبیلی در انجام این پژوهش سپاسگزاری می‌کنند. تمام مراحل آزمایش با تایید کمیته اخلاق پژوهشی دانشگاه محقق اردبیلی انجام شده است. کد اخلاقی مطالعه حاضر IR.UMA.REC.1400.085 می-باشد. هیچ کدام از نویسندگان این مطالعه تعارض منافعی برای انتشار این مقاله ندارند.

منابع

1.Sadeghi HM, Adeli I, Calina D, Docea AO, Mousavi T, Daniali M, et al. Polycystic ovary syndrome: A Comprehensive review of pathogenesis, management, and drug repurposing. Int J Mol Sci . 2022; 23(2): 583.
2. Liu x, Herbison A. Dopamine regulation of gonadotropin-releasing hormone neuron excitability in male and female mice. Endocrinology 2013; 154(1): 340–50.
3.Björklund A, Dunnett SB. Dopamine neuron systems in the brain: an update. Trends Neurosci. 2007; 30(5):194-202.
4.Jaber M, Robinson SW, Missale C, Caron MG. Dopamine receptors and brain function. Neuropharmacology. 1996; 35(11):1503-19.
5.Romero-Picó A, Novelle MG, Folgueira C, López M, Nogueiras R, Diéguez C. Central manipulation of dopamine receptors attenuates the orexigenic action of ghrelin. Psychopharmacology. 2013; 229(2): 275-83
6.Goshima Y, Masukawa D, Kasahara Y, Hashimoto T. L-DOPA and its receptor GPR143: implications for pathogenesis and therapy in parkinson's disease. Front Pharmacol. 2019; 10:1119.
7. Schalla MA, Stengel A. The role of the gastric hormones ghrelin and nesfatin-1 in reproduction. Int J Mol Sci. 2021; 22(20): 11059.
8. Caminos JE, Tena-Sempere M, Gaytán F, Sanchez-Criado JE., Barreiro ML, Nogueiras R, et al. Expression of ghrelin in the cyclic and pregnant rat ovary. Endocrinology. 2003; 144: 1594–1602.

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-02-14]

[DOI: 10.61186/sjku.28.6.1]

9. Pagotto U, Gambineri A, Vicennati V, Heiman ML, Tschöp M, Pasquali R. Plasma ghrelin, obesity, and the polycystic ovary syndrome: Correlation with insulin resistance and androgen levels. J Clin Endocrinol Metab. 2002; 87:5625–29.
10. Sadeghzadeh A, Bayrami A, Mahmoudi F, Khazali H, Asadi A. The effects of interaction of dopaminergic and kisspeptin neural pathways on ghrelin secretion in rats. J Paramed Sci. 2018; 9(1):29-35.
11. Gómez R, Ferrero H, Delgado-Rosas F, Gaytan M, Morales C, Zimmermann RC, Simón C, et al. Evidences for the existence of a low dopaminergic tone in polycystic ovarian syndrome: implications for OHSS development and treatment. J Clin Endocrinol Metab. 2011; 96(8): 2484-92.
12.Haghighat Gollo K, Mahmoudi F, Bayrami A, Zahri S. Influences of L-DOPA and blocking dopamine receptors on aromatase gene expression and serum concentration of LH in polycystic ovary syndrome model rats. JABS. 2020; 10(3):2448-55.
13. Lhosrobakhsh F, Moloudi MR, Shoja K, Mohammadi S. Effect of alpha- lipoic acid on pancreatic optic atrophy 1(OPA1) gene expression in male rat model of obstructive cholestasis and cirrhosis. SJKU. 2019; 24(5):120-34.
14. Khazali H, Mahmoudi F, Janahmadi M. Hypothalamic KiSS1/GPR54 gene expressions and luteinizing hormone plasma secretion in morphine treated male rats. Int J Fertil Steril. 2018; 12(3):223-8.
15. Gambineri A, Pagotto U, Tschöp M, Vicennati V, Manicardi E, Carcello A, et al. Anti-androgen treatment increases circulating ghrelin levels in obese women with polycystic ovary syndrome. J Endocrinol Invest. 2003; 26(7): 629-34.
16.Akalu Y, Derbew Molla M, Dessie G, Ayelign B. Effect of ghrelin on body systems. Int J Endocrinol. 2020; 2020: 1385138.
17. Tang R, Ding X, Zhu J. Kisspeptin and polycystic ovary syndrome. Front Endocrinol (Lausanne). 2019; 10: 298.
18. Iwakura H, Ariyasu H, Hosoda H, Yamada G, Hosoda K, Nakao K, et al. Oxytocin and dopamine stimulate ghrelin secretion by the ghrelin-producing cell line, MGN3-1 in vitro. Endocrinology. 2011; 152(7): 2619-25.
19.Weinberg ZY, Nicholson ML, Currie. PJ. 6-Hydroxydopamine lesions of the ventral tegmental area suppress ghrelin's ability to elicit food-reinforced behavior. Neurosci Lett. 2011; 499(2): 70-3.
20. Jiang H, Betancourt L, Smith RG. Ghrelin amplifies dopamine signaling by cross talk involving formation of growth hormone secretagogue receptor/dopamine receptor subtype 1 heterodimers. Mol Endocrinol. 2006; 20(8):1772-85.
21.Romero-Picó A, Novelle MG, Folgueira C, López M, Nogueiras R, Diéguez C. Central manipulation of dopamine receptors attenuates the orexigenic action of ghrelin. Psychopharmacology (Berl). 2013; 229(2): 275-83.
22. Jerlhag E, Egecioglu E, Dickson SL, Douhan A, Svensson L, Engel JA. Ghrelin administration into tegmental areas stimulates locomotor activity and increases extracellular concentration of dopamine in the nucleus accumbens. Addict Biol. 2007; 12(1): 6-16.
23. Blázquez E, Velázquez E, Hurtado-Carneiro V, Miguel Ruiz-Albusac J. Insulin in the brain: its pathophysiological implications for states related with central insulin resistance, type 2 diabetes and Alzheimer's disease. Front Endocrinol (Lausanne). 2014; 5: 161.
24. Ustione A, Piston DW, Harris PE. Minireview: Dopaminergic regulation of insulin secretion from the pancreatic islet. Mol Endocrinol. 2013; 27(8): 1198-207.
25. Pöykkö SM, Kellokoski E, Hörkkö S, Kauma H, Kesäniemi YA, Ukkola O. Low plasma ghrelin is associated with insulin resistance, hypertension, and the prevalence of type 2 diabetes. Diabetes. 2003; 52(10): 2546-53.

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-02-14]

[DOI: 10.61186/sjku.28.6.1]