

دانشگاه محقق اردبیلی

دانشکده‌ی علوم

گروه آموزشی زیست‌شناسی

پایان‌نامه برای دریافت درجه‌ی کارشناسی ارشد  
در رشته‌ی زیست‌شناسی جانوری گرایش فیزیولوژی

### عنوان:

**بررسی اثرات مسیر دوپامینرژیک بر میانگین بیان نسبی ژن‌های آدیپونکتین و  
آروماتاز در سندرم تخمدان پلی‌کیستیک القایی در مدل موش‌های صحرایی**

اساتید راهنما:

دکتر ابوالفضل بایرامی

دکتر فریبا محمودی

استاد مشاور:

پروفسور صابر زهری

پژوهشگر:

خدیجه حقیقت گللو

زمستان ۱۳۹۶

نام خانوادگی دانشجو: حقیقت گللو نام: خدیجه	
عنوان پایان نامه: بررسی اثرات مسیر دوپامینرژیک بر میانگین بیان نسبی ژن‌های آدیپونکتین و آروماتاز در سندرم تخمدان پلی کیستیک القایی در مدل موش‌های صحرایی	
اساتید راهنما: دکتر ابوالفضل بایرامی - دکتر فریبا محمودی استاد مشاور: پروفیسور صابر زهری	
مقطع تحصیلی: کارشناسی ارشد	رشته: زیست شناسی
گرایش: فیزیولوژی جانوری	دانشگاه: محقق اردبیلی
دانشکده: علوم	تاریخ دفاع: ۹۶/۱۰/۲۴
تعداد صفحات: ۶۹	
چکیده:	
<p>سندرم تخمدان پلی کیستیک (PCOS) یکی از شایع‌ترین اختلالات غدد درون ریز در زنان و مهم‌ترین علت نازایی ناشی از عدم تخمک‌گذاری می‌باشد. آروماتاز آنزیمی است که سبب تبدیل تستوسترون به استرادیول می‌شود. در افراد PCOS سطوح سرمی آندورژن‌ها در اثر اختلال در عملکرد آنزیم‌های استروئیدوژنز، افزایش یافته و در آنها سطوح فعالیت آنزیم آروماتاز و غلظت سرمی آدیپونکتین پایین و غلظت سرمی انسولین بالا است. در این تحقیق اثرات ال‌دوپا و آنتاگونیست‌های گیرنده دوپامین بر میانگین بیان نسبی ژن‌های آروماتاز و آدیپونکتین در تخمدان موش‌های صحرایی PCOS بررسی شد. موش‌های صحرایی نژاد ویستار به وزن ۲۲۰-۱۷۰ گرم با دریافت داخل عضلانی استرادیول والرات به PCOS مبتلا شدند. پانزده موش صحرایی PCOS در سه گروه به ترتیب تزریق داخل صفاقی سالیین، ۱۰۰ mg/kg ال‌دوپا یا تزریق همزمان ۱۰ mg/kg سولپرید، ۱ mg/kg SCH23390 هیدروکلراید و ۱۰۰ mg/kg ال‌دوپا را دریافت کردند. همچنین پنج موش صحرایی سالم در مرحله استروس به عنوان گروه کنترل، تزریق داخل صفاقی سالیین را دریافت نمود. نمونه‌های تخمدان جداسازی شدند. میانگین بیان نسبی ژن‌های آدیپونکتین و آروماتاز با روش واکنش زنجیره‌ای پلیمرز ریل تایم (RT-PCR) اندازه‌گیری شد. داده‌های حاصل با استفاده از آزمون t-test جفت نشده و آزمون آنوای یک طرفه و با نرم‌افزار SPSS آنالیز شد. مقایسه میانگین داده‌ها با آزمون تعقیبی توکی بررسی شد و در تمام آنالیزها نتایج با <math>P \leq 0.05</math> از نظر آماری معنی‌دار گزارش گردید. نتایج نشان داد که تزریق ال‌دوپا میانگین بیان نسبی ژن آدیپونکتین را در تخمدان در مقایسه با گروه PCOS از نظر آماری به طور معنی‌داری افزایش نداد. ولی آن سبب افزایش معنی‌دار میانگین بیان نسبی ژن آروماتاز در تخمدان در مقایسه با گروه PCOS شد. بلکه کردن گیرنده‌های دوپامین با سولپرید و SCH23390 و به دنبال آن تزریق ال‌دوپا سبب کاهش میانگین بیان نسبی ژن‌های آروماتاز و آدیپونکتین در تخمدان در مقایسه با گروه ال‌دوپا شد ولی این میزان کاهش در میانگین بیان نسبی هیچ یک از این دو ژن از نظر آماری معنی‌دار نبود. مسیر پیام‌رسانی دوپامینرژیک ممکن است که از طریق تنظیم میزان سنتز آروماتاز در کنترل اختلالات ناشی از افزایش ترشح آندروژن‌ها در موش‌های صحرایی PCOS نقش مهمی داشته باشد.</p>	
کلید واژه‌ها: ال‌دوپا، سولپرید، SCH23390، آروماتاز، آدیپونکتین.	

فصل اول: مقدمه

۱-۱- مقدمه ..... ۲

فصل دوم: مروری بر منابع علمی

۱-۲- سندروم تخمدان پلی کیستیک ..... ۵

۱-۱-۲- علل ایجاد ..... ۵

۲-۱-۲- متابولیسم غیر نرمال آندروژن و افزایش آن در تخمدان پلی کیستیک ..... ۵

۳-۱-۲- افزایش فعالیت سمپاتیک ..... ۶

۴-۱-۲- تکثیر زیاد آنزیم استروئیدوژنز در سلول های تکای تخمدان پلی کیستیک ..... ۶

۵-۱-۲- افزایش تکثیر سلو لهای تکا در تخمدان پلی کیستیک ..... ۶

۶-۱-۲- مقاومت به انسولین ..... ۶

۷-۱-۲- علائم ..... ۷

۸-۱-۲- تشخیص و درمان ..... ۷

۹-۱-۲- کلومیفن سیترات ..... ۸

۲-۲- دوپامین ..... ۸

۱-۲-۲- ساختمان بیوشیمیایی و بیوسنتز دوپامین ..... ۹

۲-۲-۲- جایگاه آناتومیکی نورون های دوپامینرژیک در مغز ..... ۹

۳-۲-۲- گیرنده های دوپامین در مغز ..... ۱۰

۴-۲-۲- سیستم دوپامینرژیک محیطی ..... ۱۱

۵-۲-۲- نقش مسیر پیام رسانی گیرنده دوپامین بر تنظیم فعالیت محور تولید مثلی ..... ۱۲

۶-۲-۲- نقش دوپامین در سندروم تخمدان پلی کیستیک ..... ۱۳

۷-۲-۲- ال - دوپا ..... ۱۴

۸-۲-۲- آگونیست و آنتاگونیست های گیرنده دوپامین ..... ۱۵

۳-۲-۲- آروماتاز ..... ۱۶

۱-۳-۲- ساختار ژنی آروماتاز ..... ۱۷

۲-۳-۲- عملکرد بیولوژیکی آروماتاز در بافت های مختلف ..... ۱۷

۱-۲-۳-۲- جفت: ..... ۱۷

۲-۲-۳-۲- استخوان: ..... ۱۸

۳-۲-۳-۲- پروستات: ..... ۱۸

۴-۲-۳-۲- بیضه: ..... ۱۸

۳-۳-۲- نقش استروژن/آروماتاز در تولید مثل مردان ..... ۱۹

۴-۳-۲- نقش استروژن/آروماتاز در تولیدمثل زنان ..... ۱۹

- ۲-۳-۵- فاکتور های دخیل در بیان آروماتاز..... ۲۰
- ۲-۳-۶- بیان آروماتاز در سلول های عصبی مرکزی.....
- ۲-۳-۷- ارتباط آروماتاز با سرطان سینه.....
- ۲-۳-۸- مهارکننده های آروماتاز.....
- ۲-۳-۹- آروماتاز و درمان سرطان پستان.....
- ۲-۳-۱۰- مکانیسم عمل مهارکننده آروماتاز.....
- ۲-۴-آدیپونکتین.....
- ۲-۴-۱- ساختار آدیپونکتین.....
- ۲-۴-۲- ساختار ژنی آدیپونکتین.....
- ۲-۴-۳- گیرنده آدیپونکتین.....
- ۲-۴-۴- نقش فیزیولوژی آدیپونکتین در بافت های مختلف.....
- ۲-۴-۵- ارتباط آدیپونکتین با مقاومت به انسولین.....
- ۲-۴-۶- نقش آدیپونکتین در فیزیولوژی تولید مثل.....
- ۲-۴-۷- ارتباط آدیپونکتین با سندروم تخمدان پلی کیستیک.....
- ۲-۴-۸- بیان آدیپونکتین در سیستم های عصبی مرکزی و نقش آن در کنترل تولید مثل.....
- ۲-۵- اهداف پژوهش.....

### فصل سوم: مواد و روشها

- ۳- مواد و روش.....
- ۳-۱- مواد، وسایل و دستگاه ها.....
- ۳-۱-۱- وسایل.....
- ۳-۱-۲- مواد.....
- ۳-۱-۳- دستگاه ها.....
- ۳-۲- محل انجام آزمایش.....
- ۳-۳- واحد آزمایشی.....
- ۳-۴- تغذیه و شرایط نگهداری حیوان.....
- ۳-۵- تیمار آزمایش.....
- ۳-۶- مراحل انجام آزمایش.....
- ۳-۶-۱- واژیناسیون.....
- ۳-۶-۲- القای سندروم تخمدان پلی کیستیک.....
- ۳-۶-۳- مرحله تزریق.....
- ۳-۶-۴- مرحله خارج کردن تخمدان.....
- ۳-۶-۵- استخراج.....
- ۳-۶-۶- انجام واکنش رونویسی معکوس برای سنتز.....
- ۳-۶-۷- واکنش ریل تایم پیسیار کمی.....

.....	۳-۶-۸-منحنی ذوب
.....	۳-۶-۹-نرمالیزه کردن
.....	۳-۶-۱۰-اندازه گیری میزان محصولات توالی هدف در ریل تایم پی سی آر
.....	۳-۶-۱۱-تجزیه و تحلیل داده‌ها

### فصل چهارم:نتایج

.....	۴- نتایج
.....	۴-۱- بررسی اثرات الدوپا یا آنتاگونیستهای گیرنده دوپامین بر میانگین بیان نسبی ژن آدیپونکتین در سستروم تخمدان پلی کیستیک القایی در موش های صحرایی
.....	۴-۱-۱- مقایسه میانگین بیان نسبی ژن آدیپونکتین در تخمدان موشهای صحرایی <sup>POC</sup> و سالم
.....	۴-۱-۲- میانگین بیان نسبی ژن آدیپونکتین در تخمدان موشهای صحرایی دریافتکننده ال-دوپا یا تزریق همزمان ال-دوپا ، سولپرید و <sup>POC</sup> هیدروکلراید در مقایسه با گروه <sup>POC</sup> دریافت کننده سالین و گروه کنترل سالم
.....	۴-۲- بررسی اثرات الدوپا یا آنتاگونیستهای گیرنده دوپامین بر میانگین بیان نسبی ژن آروماتاز در سستروم تخمدان پلی کیستیک القایی در موش های صحرایی
.....	۴-۲-۱- مقایسه میانگین بیان نسبی ژن آروماتاز در تخمدان موشهای صحرایی <sup>POC</sup> و سالم
.....	۴-۲-۲- میانگین بیان نسبی ژن آروماتاز در تخمدان موشهای صحرایی دریافتکننده ال-دوپا یا تزریق همزمان ال-دوپا - سولپرید و <sup>POC</sup> هیدروکلراید در مقایسه با گروه <sup>POC</sup> و سالم

### فصل پنجم:نتیجه گیری و بحث

.....	۵- بحث
.....	۵-۱- اثرات ال دوپا یا تزریق همزمان ال دوپا، سولپرید و <sup>POC</sup> بر میانگین بیان نسبی ژن آروماتاز
.....	۵-۲- اثرات ال دوپا یا تزریق همزمان ال دوپا- سولپرید- <sup>POC</sup> بر میانگین بیان نسبی ژن آدیپونکتین
.....	۵-۳- نتیجه گیری کلی
.....	۵-۴- پیشنهاد ها
.....	فهرست منابع و مآخذ

## فهرست جداول

صفحه	عنوان
Error! Bookmark not defined.	جدول ۳-۱. توالی سنس و آنتی سنس پرایمر ها.....
Error! Bookmark not defined.	جدول ۳-۲. مواد استفاده شده در واکنش ریل تایم پی سی آر.....
Error! Bookmark not defined.	جدول ۳-۳. برنامه زمانی برای واکنش پیسیآر نیمه کمی بر طبق دستورالعمل کیت.

## فهرست شکل ها

صفحه	عنوان
	شکل ۱-۲. توزیع نورون های دوپامین در a (مغز در حال نمو) b (مغز بالغ) در موش که از مزانسفالین تا قسمت پیشین مغز گسترش یافته اند (Bjorklund & Dunnet, 2007)..... ۱۰
	شکل ۱-۳- سلولها در مراحل مختلف سیکل جنسی..... <b>Error! Bookmark not defined.</b>
	شکل ۲-۳- شکل سلول ها در نمونه واژنی در موشهای صحرایی مبتلا به سندروم تخمدان پلیکیستیک <b>Error! Bookmark not defined.</b>
	شکل ۱-۴: منحنیهای Raw Data For Cycling A.Green (الف) و Quantitation data for Cycling A.Green (ب) و منحنی ذوب(ج) حاصل از ریل تایم PCR برای ژن آدیپونکتین در تخمدان. <b>Error! Bookmark not defined.</b>
	شکل ۲-۴: منحنیهای Raw Data For Cycling A.Green (الف) و Quantitation data for Cycling A.Green (ب) و منحنی ذوب(ج) حاصل از ریل تایم PCR برای ژن آروماتاز در تخمدان. <b>Error! Bookmark not defined.</b>
	شکل ۳-۴: منحنیهای Raw Data For Cycling A.Green (الف) و Quantitation data for Cycling A.Green (ب) و منحنی ذوب(ج) حاصل از ریل تایم PCR برای ژن GAPDH در تخمدان برای نرمالیزه کردن دادههای ژنهای آدیپونکتین و آروماتاز در تخمدان..... <b>Error! Bookmark not defined.</b>
	شکل ۱-۵. افزایش میانگین بیان نسبی آروماتاز در تخمدان با تزریق ال دوپا یا تزریق هم زمان ال دوپا-سولپرید- SCH23390..... <b>Error! Bookmark not defined.</b>
	شکل ۲-۵. افزایش میانگین بیان نسبی ژن آدیپونکتین در تخمدان با تزریق ال دوپا یا تزریق هم زمان ال دوپا-سولپرید و SCH23390..... <b>Error! Bookmark not defined.</b>

## فهرست نمودارها

عنوان	صفحه
نمودار ۱-۴. میانگین بیان نسبی ژن آدیپونکتین در تخمدان موشهای صحرایی PCOS در مقایسه با موشهای صحرایی سالم. ....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
نمودار ۲-۴. میانگین بیان نسبی ژن آدیپونکتین در تخمدان موشهای صحرایی دریافتکننده ۱۰۰mg/kg ال دوپا یا تزریق هم زمان ۱۰۰mg/kg ال دوپا - ۱۰mg/kg سولپریدو ۱mg/kg SCH23390 در مقایسه با موش های صحرایی گروه سالم و گروه PCOS. ....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
نمودار ۳-۴. میانگین بیان نسبی ژن آروماتاز در تخمدان موشهای صحرایی PCOS در مقایسه با موش های صحرایی سالم. ....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
نمودار ۴-۴. میانگین بیان نسبی ژن آروماتاز در تخمدان موشهای صحرایی دریافت کننده ۱۰۰mg/kg ال دوپا یا تزریق هم زمان ۱۰۰mg/kg ال دوپا - ۱۰mg/kg سولپریدو ۱mg/kg SCH23390	<b>Error! Bookmark not defined.</b>



# فصل اول

## مقدمه

## ۱-۱- مقدمه

سندروم تخمدان پلی کیستیک (PCOS)، ناشی از اختلالات غدد درون ریز در زنان است که حدود ۱۰-۵ درصد زنان در سنین باروری را درگیر می‌کند. در این افراد توقف رشد فولیکول‌ها و در نتیجه تجمع فولیکول‌های کوچک و افزایش حجم استرومای تخمدان مشاهده می‌شود. زنان مبتلا به PCOS ممکن است به دلیل کمبود تخمک‌گذاری، در باردارشدن با مشکل مواجه شوند (Johansson & Stener, 2013). از دلایل بروز PCOS می‌توان به نقص در عملکرد محور هیپوتالاموس - هیپوفیز - تخمدان و فعالیت انسولین اشاره کرد، در واقع PCOS با ترشحات غیر عادی گنادوتروپین ناشی از نقص در آنزیم آروماتاز و در برخی اوقات با مقاومت به انسولین همراه است (Lin et al, 2012). علائم این سندروم شامل ویژگی‌های بالینی (اختلالات قاعدگی، پرمویی، ناباروری)، تغییرات هورمون‌های غدد درون ریز (افزایش آندروژن، استروژن، پرولاکتین) و اختلالات متابولیک (مقاومت به انسولین، چاقی، چربی خون، دیابت نوع دو) می‌باشد (Tannys et al, 2010).

فاکتورهای مختلفی در ایجاد PCOS می‌توانند دخیل باشند. مطالعات اخیر نشان می‌دهد که آروماتاز یک آنزیم کلیدی در سنتز استروژن در انواع مختلف بافت‌ها از جمله تخمدان، بیضه، کبد، مغز، استخوان، درجنس نر و ماده است، و در هر کدام از بافت‌ها عملکرد ویژه‌ای دارد. این آنزیم با کاتالیز آندروژن به استروژن در تخمدان و بیضه اثر خود را روی تولید مثل می‌گذارد. و اختلال در بیان این ژن در موش و انسان بیوسنتز استروژن را دچار مشکل می‌کند. شواهد نشان می‌دهد در سندروم تخمدان پلی کیستیک در سلول‌های گرانولوزای تخمدان، بیان آروماتاز کاهش می‌یابد که به موجب آن سطح آندروژن بالا رفته و در نتیجه تعدادی از تحقیقات آن را به عنوان یکی از عوامل مهم در پاتوژنر PCOS مطرح می‌کنند (Guillaume, et al, 2016).

آدیپونکتین از دیگر فاکتورهای دخیل در سندروم تخمدان پلی کیستیک است. هورمون پپتیدی مترشحه از هیپوتالاموس، تخمدان و بافت چربی است و اثرات فیزیولوژیکی خود از جمله مهار ترشح هورمون LH را از طریق دو گیرنده بنام AdipoR1/ R2 اعمال می‌کند. این گیرنده‌ها در هیپوتالاموس جانبی و میانی بیان می‌شود. همچنین بیان گیرنده‌های آدیپونکتین در تخمدان نیز مشاهده شده است (Kadowaki & Yamauchi, 2005). آدیپونکتین با تاثیر بر بخش‌های مختلف سیستم تولیدمثلی مانند هیپوتالاموس و هیپوفیز (با مهار ترشح هورمون‌های GnRH/LH)، بیضه، تخمدان در باروری جنس نر و ماده در انسان و جوندگان نقش دارد. مطالعات

نشان می‌دهد که در افراد با سندروم تخمدان پلی کیستیک غلظت پلاسمایی آدیپونکتین کاهش می‌یابد و این بیماران به دلیل کاهش ترشح آدیپونکتین در معرض ریسک بالایی از ابتلا به دیابت نوع دو و اختلالات قلبی-عروقی و اختلالات ترشح هورمون‌های کنترل کننده تولیدمثلی قرار می‌گیرند (Wang et al, 2010).

دوپامین یکی از مهمترین انتقال دهنده های دستگاه عصبی مرکزی است که از اسید آمینه تیروزین توسط آنزیم تیروزین هیدروکسیلاز در نواحی مختلف مغز و همچنین اندام های محیطی نظیر تخمدان، دستگاه گوارش و غیره سنتز می‌شود. علاوه بر مغز، آنزیم تیروزین هیدروکسیلاز در اندام‌های محیطی هم بیان می‌شود. آن دارای پنج گیرنده است که به دو گروه D<sub>1</sub>-like و D<sub>2</sub>-like تقسیم می‌شوند. دوپامین سبب مهار فعالیت محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-گنادهای (HPG) و کاهش ترشح GnRH/LH و تستوسترون می‌شود (Parillo et al, 2014).

همچنین نشان داده شده است که گیرنده D<sub>1</sub> و D<sub>2</sub> دوپامین در تخمدان و بافت چربی بیان شده و موجب تکامل فولیکول، تخمک گذاری، آزاد سازی گنادوتروپین ها قبل از تخمک گذاری می‌شود. همچنین مطالعات نشان داده است آنتاگونیست‌های گیرنده D<sub>1</sub> و D<sub>2</sub> دوپامین موجب تحریک ترشح GnRH/LH می‌شوند. تحقیقات نشان می‌دهد در سندروم تخمدان پلی کیستیک میزان سنتز آروماتاز و غلظت پلاسمایی آدیپونکتین و سطوح آزادسازی دوپامین پایین است (Jakimiuk et al, 1998). با توجه به دخالت هر سه ماده دوپامین، آدیپونکتین و آروماتاز در کنترل مسیر اندوکرینی تولیدمثل، در تحقیق حاضر اثرات تزریق داخل صفاقی ال‌دوپا و آنتاگونیست‌های گیرنده دوپامین بر میانگین بیان نسبی ژن‌های آروماتاز و آدیپونکتین در تخمدان موش‌های صحرایی مبتلا به سندروم تخمدان پلی کیستیک القایی با استرادیول والرات بررسی می‌شود.

# فصل دوم

## مروری بر منابع علمی

## ۲-۱- سندروم تخمدان پلی کیستیک

سندروم تخمدان پلی کیستیک یا PCOS، یکی از اختلال آندوکرینی شایع بین زنان در سنین باروری است. این سندروم همچنین یکی از شایعترین علت نازایی زنان، ناشی از عدم تخمک گذاری می‌باشد. طبق گزارش سازمان بین المللی سلامت، تقریباً ۵ میلیون از زنان در سن ۱۸-۴۴ سالگی در معرض ابتلا به این سندروم هستند، علت نام گذاری این سندروم به دلیل وجود تعداد زیادی از کیست های کوچک است که در لایه بیرونی تخمدان قرار گرفته اند. اگرچه سندروم تخمدان پلی کیستیک تا حدودی شناسایی و تشخیص داده شده است، ولی هنوز هیچ تعریف مشخصی برای علت آن وجود ندارد (Johansson et al, 2015). اما احتمال می‌دهند که نقص در عملکرد محور هیپوتالاموس - هیپوفیز - تخمدان، فعالیت انسولین، ترشحات غیر عادی گنادوتروپین، افزایش هورمون های مردانه و افزایش استروئید تخمدان، ناشی از نقص در عملکرد آنزیم آروماتاز در بروز آن دخیل باشند (Lin et al, 2012).

## ۲-۱-۱- علل ایجاد PCOS

علازغم تحقیقات گسترده و شیوع بالای PCOS، اتیولوژی آن هنوز ناشناخته باقی مانده است. به علت حالت هتروژنی بودن PCOS، این سوال مطرح است که آیا این سندروم تنها در اثر یک اختلال ایجاد می‌شود، یا چندین فاکتور در ایجاد آن دخیل هستند؟ طبق تحقیقات انجام شده توسط محققان چندین فاکتور در ایجاد PCOS ارائه شده است که به صورت زیر توضیح داده می‌شود (Johansson et al, 2015).

## ۲-۱-۲- متابولیسم غیر نرمال آندروژن و افزایش آن در تخمدان پلی کیستیک

متابولیسم نرمال تولید آندروژن ها در سلول های تکا در فاز استروس و در سلول های گرانولوزا در فاز دی استروس انجام می‌گیرد. که در تخمدان پلی کیستیک سنتز نرمال آندروژن دچار اختلال می‌شود (Scicchitano, et al, 2012).

## ۲-۱-۳- افزایش فعالیت سمپاتیک

سیستم عصبی خودکار دو نوع هستند، سمپاتیک و پاراسمپاتیک. که توسط نوروترانسمیترهای آندوکرینی و فعالیت گیرنده آدرنرژیک کنترل می‌شوند.

عامل های ایجاد PCOS مثل کیست های تخمدان، مقاومت به انسولین، چاقی مرکزی، فشارخون بالا با افزایش فعالیت سمپاتیک ارتباط دارند. در تخمدان پلی کیستیک تغییر در فعالیت و عملکرد سیستم عصبی خودکار بخصوص کاهش در فعالیت پاراسمپاتیک و افزایش در فعالیت سمپاتیک مشاهده شده است (Johansson et al, 2015).

## ۲-۱-۴- تکثیر زیاد mRNA آنزیم استروئیدوژنز در سلول های تکای تخمدان پلی کیستیک

علاوه بر توسعه زیاد سلول های تکا در سندروم تخمدان پلی کیستیک، بیان زیاد mRNA آنزیم استروئیدوژنز در ایجاد هیپر آندروژنیسم در سندروم تخمدان پلی کیستیک سهیم هستند (Magoffin, 2011).

## ۲-۱-۵- افزایش تکثیر سلولهای تکا در تخمدان پلی کیستیک

در تخمدان پلی کیستیک فولیکول های کوچک به ضخامت ۳-۷ میلی متر دیده می شود. بنابراین زنان PCOS، در مرحله آنترال، تخمدان با فولیکول های بیشتر نسبت به حالت نرمال دارند. در این صورت سلول های تکای تخمدان پلی کیستیک لایه سلولی سنتز کننده استروژن بیشتری نسبت به تخمدان نرمال خواهند داشت، که این لایه های بیشتر ترشح آندروژن بیشتری نیز خواهند داشت. در مقابل لایه های سلول های گرانولوزا توسعه چندانی پیدا نمی کند (Deleo et al, 2016).

## ۲-۱-۶- مقاومت به انسولین

عمل انسولین با اتصال به گیرنده سطح سلول انجام می‌گیرد، که نتیجه آن فعال شدن تیروزین کیناز ها می‌باشد. با فسفو ریلایسیون گیرنده، فعالیت کینازی افزایش یافته و واکنش های زنجیره ای فسفوریلایسیون انجام می‌گیرد، سپس با تولید سیگنال های داخلی، فعالیت آنزیم تنظیم شده که در نهایت سلولها قادر به گرفتن و استفاده از گلوکز می باشند. هر اختلال در این مسیر می تواند منجر به مقاومت به انسولین شود (Dennett & simon, 2015). در تخمدان سالم انسولین به تنظیم عملکرد تخمدان کمک می‌کند و تخمدان با تولید آندروژن به انسولین پاسخ می‌دهد که می‌تواند منجر به تخمک گذاری شود. در حالی که در تخمدان غیر نرمال مثل وجود

کیست در تخمدان، به علت اختلال در مسیر سنتز انسولین و ایجاد مقاومت به انسولین، تخمدان فعالیت طبیعی خود را از دست داده و بلوغ فولیکول ها متوقف می شود ( Nodefo et al, 2013).

## ۲-۱-۷-علائم PCOS

زنان مبتلا به سندروم تخمدان پلی کیستیک علائم شایعی را تظاهر می کنند که تشخیص و درمان آنها با توجه به علائمی که نشان می دهند مهم است. PCOS را به صورت کلینیکی، بیوشیمیایی و مورفولوژیکی می توان شناسایی کرد. از علائم فنوتیپی و مورفولوژیکی به رشد موهای زائد در صورت، آکنه روی سطح بدن، و از علائم بیوشیمیایی مثل افزایش آندروژن و علائم کلینیکی مثل افزایش LH, GnRH و اختلالات قاعدگی، ناباروری، می توان اشاره کرد (Hywood & Nodefo et al, 2013).

## ۲-۱-۸- تشخیص و درمان PCOS

تشخیص و درمان سندروم تخمدان پلی کیستیک برای حفظ و بهبود تولید مثل، کاهش علائم، و جلوگیری از PCOS در دوران جوانی مهم است. حدود ۲۵ درصد بیماران PCOS در سطح پرولاکتین افزایش را نشان می دهند، که افزایش پرولاکتین می تواند باعث اختلال سنتز استروژن تخمدان شود. در این صورت محور هیپوتالاموس - هیپوفیز - تخمدان در تنظیم و ترشح هورمون های تولید مثلی مختل می شود (Dennett & simon, 2015).

به علت اتیولوژی غیر مطمئن، هتروژنی بودن PCOS، نمی توان درمان قطعی برای آن پیش بینی کرد. با این حال درمان آن منحصراً روی تولید مثل اساس شده است که ۹۰-۹۵ درصد زنان PCOS، جهت باروری تحت درمان قرار می گیرند تغییر در عادت زندگی مثل تغذیه با رژیم غذایی مناسب، ورزش در جمعیت هایی که اضافه وزن دارند، اولین خط درمانی می باشد. همچنین تنظیم فعالیت بدنی در زنان PCOS موجب بهبود روح و روان و کاهش استرس آنها می شود. کمبود ویتامین D در زنان با سندروم تخمدان پلی کیستیک رایج است، مکمل های ویتامین D ممکن است موجب بهبودی تولید مثل و میزان حساسیت انسولین شود. همچنین جهت بهبود عملکرد تخمدان و بهبود باروری از داروی های شیمیایی مثل کلومیفن سیرات استفاده می شود. همچنین کاهش

سطح انسولین و آندروژن و تنظیم هورمون های جنسی متصل به گلوبولین<sup>۲</sup> SHBG باعث تنظیم موثر در علائم PCOS خواهد شد (Johansson et al, 2015).

## ۲-۱-۹- کلومیفن سیترات

اولین خط درمان شیمیایی برای تخمک گذاری در زنان PCOS کلومیفن سیترات با نام شیمیایی IB دی اتیل آمینواتوکسی فنیل ۱-۲ دی فنیل کلرواتیلن است. در سال ۱۹۵۶ برای اولین بار در زنان با عدم تخمک گذاری استفاده شد. بعد از ۵۰ سال این دارو هنوز در سراسر جهان برای درمان باروری استفاده می شود. کلومیفن سیترات یک تنظیم کننده غیراستروئیدی با خواص آنتی استروئیدوژن و استروئیدوژن که مخلوطی از دو استریو ایزومر با نسبت مزوکلومیفن ۳۸ درصد، آندوکلومیفن ۶۲ درصد است. که نیمه عمر کوتاهی دارند با این حال اثر خواص آنتی استروئیدوژن آن نسبت به خواص استروئیدوژن زیاد بوده و باعث تخمک گذاری و بارداری می شود. درمان با کلومیفن سیترات در ۶۰-۸۰ درصد موارد روی افراد PCOS موفقیت آمیز گزارش شده است، و بیش از ۷۰ درصد افراد PCOS به دوز ۱۵۰ میلی گرم پاسخ مثبت دادند. کلومیفن سیترات ترشح گنادو تروپین ها را از غده هیپوفیز به وسیله اتصال به گیرنده استروژن در هیپوتالاموس را القا می کند. بنابراین مزاحم مکانیسم فیدبک منفی استرادیول شده و منجر به افزایش ترشح LH, FSH خواهد شد (Palomba, 2015).

## ۲-۲- دوپامین

دوپامین نوعی پیام رسان عصبی از نوع کاتکول آمین است، که به طور طبیعی در بدن بیشتر مهره داران و بی مهره گان وجود دارد. مطالعه روی کاتکول آمین ها از جمله دوپامین از سال ۱۹۶۰ شروع شد (Bjorklund & Dunnet, 2007). طی مطالعاتی که انجام شده است، برای دوپامین نقش های مختلفی را ذکر کرده اند، از جمله آن می توان، دخالت در رفتار های هیجانی، پرخاشگری، انقباض عروق، تنظیم سلول های بینایی، تنظیم تولید مثل و رفتار های مربوط به آن اشاره کرد. به طور کلی ناحیه ای از مغز که دوپامین بیشتر در آنجا یافت می شود، مربوط به قسمت هایی است که تنظیم کننده حرکات، احساسات، عواطف، یاد گیری و رفتار های جنسی می باشد (Sander, 2011). همچنین بسیاری از بیماری های عصبی و روانی به اختلال در ترشح و عملکرد دوپامین دلالت می کند. به عنوان مثال کاهش تدریجی نورون های دوپامینرژیک باعث کاهش تولید دوپامین در عقده های

---

2. Sex hormone binding Globulin



عصبی مغز شده که این امر موجب بیماری پارکینسون خواهد شد. و یا اینکه اخیراً تحقیقات نشان داده است که اختلال سندروم تخمدان پلی کیستیک می‌تواند ناشی از کاهش دوپامین باشد (Mayehofer et al, 2015). دوپامین به عنوان پایدار کننده فعالیت مغزی نقش بسیار مهمی در تنظیم جریان اطلاعات از مغز به سایر قسمت های بدن دارد. مطالعات نشان داده است که دوپامین و skf (آگونیست گیرنده D1 دوپامین) باعث تحریک ترشح آدیپونکتین از قسمت های مختلف بافت چربی شده است (Brocherding et al, 2011). همچنین مطالعه دیگری هم اثر تحریک کنندگی دوپامین روی بیان mRNA آروماتاز را نشان می دهد (Xing et al, 2015). در این تحقیق، تاثیر مسیر های دوپامینرژیک روی بیان ژن های (آدیپونکتین و آروماتاز) که در فرایند تولیدمثلی نقش دارند، مورد بررسی قرار گرفته است.

## ۲-۲-۱- ساختمان بیوشیمیایی و بیوسنتز دوپامین

دوپامین یک نوروترانسمیتر کاتکول آمینی است، ویژگی ساختاری این هورمون به این صورت است که از یک گروه آمین و هسته کاتکول (یک بنزین با دو گروه هیدروکسیلی متصل به آن) و یک زنجیره جانبی از اتیل آمین ساخته شده است. پیش ماده سنتز دوپامین اسید آمینه تیروزین می‌باشد. بیوسنتز این ترکیب از طریق تبدیل تیروزین به L-3-4-هیدروکسی فنیل آلانین (L-dopa<sup>3</sup>) در حضور آنزیم تیروزین هیدروکسیلاز صورت می‌پذیرد. سپس در اثر هیدروکسیلاسیون، ال دوپا، توسط آنزیم ال آمینو دکربوسیلاز (AADC<sup>4</sup>) به دوپامین تبدیل می‌شود، که در وزیکول های پس سیناپسی ذخیره شده در صورت وجود آنزیم های مرتبط می‌تواند در ساختار آدرنالین و نورآدرنالین مشارکت نمایند (Nicole, 2010).

## ۲-۲-۲- جایگاه آناتومیکی نورون های دوپامینرژیک در مغز

مطالعه کاتکول آمین ها به سال ۱۹۶۰ همزمان با به وجود آمدن تکنیک های مختلف شناسایی، مثل متد هیستوشیمیایی بر می‌گردد. محققان ابتدا ۱۲ گروه از سلول های کاتکول آمین (A1-A12) را شناسایی کردند. سپس ۵ گروه دیگر در ناحیه دیانسفالین شناسایی شده (A13-A17) به این گروه اضافه گردید. (این نامگذاری به دلیل سهولت می باشد (Bjorklund & Dunnet, 2007)). مغز شامل میلیون ها سلول عصبی است که با یکدیگر به وسیله ترشح نوروترانسمیتر ها ارتباط دارند. این نورون ها در شبکه های ویژه ای قرار دارند که رفتار، عواطف، و

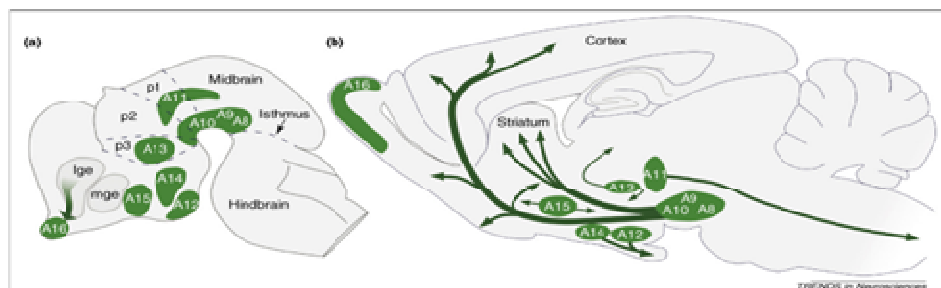
3. L 3-4 didydroxyphenelalanine

4. Laminoacid decarboxylase

احساسات را کنترل می‌کنند. نورون های دوپامینرژیک به طور ویژه در محدوده هیپوتالاموس و نواحی نزدیک به آن قرار دارند. با این حال توزیع این نورون ها در جانوران مختلف متفاوت است. به دنبال شناسایی نورون های دوپامینرژیک، در سال ۱۹۷۰ آنزیم های کاتالیز کننده آنها مثل تیروزین هیدروکسیلاز، اسید آمینه دهیدروکسیلاز، دوپامین B دهیدروکسیلاز نیز کشف شدند (Bjorklund et al, 2007 & Nicole, 2010). ۱۷ گروه نورون های دوپامینرژیک در نواحی مختلف مغز توزیع شده اند، مطالعات نشان داد که جسم سلولی نورون های دوپامینرژیک در هیپوتالاموس در ناحیه دور بطنی (A11) و دور قوسی (A12) قرار گرفته است (Bjorklund et al, 2007). نورون های دوپامینرژیک پراکنده شده در مغز چهار مسیر زیر را پیش می‌گیرند. ۱- نیگرواستریاتال (nigrostriatal): جسم سلولی نورون دوپامینرژیک در هسته سیاه مغز میانی قرار دارد که در حرکت، تشخیص و بیماری پارکینسون دخالت دارند. ۲- مسیر مزوکوردال: جسم سلولی نورون دوپامینرژیک در ناحیه VTA (ventral tegmental area) واقع شده جایی که در یاد گیری و حافظه نقش دارد. ۳- مسیر مزولیمبیک: جسم سلولی نورون دوپامینرژیک در هسته آکومبیس قرار داشته، این نواحی در رفتار های حرکتی نقش دارند (Nicole, 2010). ۴- مسیر توبروفاندی بولار: جسم سلولی نورون دوپامین در هسته آرک هیپوتالاموس قرار دارد دوپامین از انتهای آکسون به شبکه مویرگی در هیپوفیز پیشین ترشح شده، روی سلول های لاکتوتروف اثر گذاشته باعث مهار پرولاکتین می‌گردد (Nicole, 2010)

### ۲-۲-۳- گیرنده های دوپامین در مغز

گیرنده های دوپامین با بسیاری از عملکردهای سلولی در ارتباط هستند. در سیستم عصبی پستانداران فعالیت گیرنده دوپامین برای تنظیم خلق و خو، احساسات و عملکرد حرکتی ضروری است.



شکل ۲-۱. توزیع نورون های دوپامین در (مغز در حال نمو) a (مغز بالغ) در موش که از مزانسفالین تا قسمت پیشین مغز گسترش یافته اند (Bjorklund & Dunnet, 2007)

سیستم عصبی دارای دو نوع گیرنده است، گیرنده هایی که عملکرد سریعی دارند، مثل گیرنده های گابا و نیکوتین که با اتصال به نوروترانسمیترهای عضلانی (کانال های دریچه دار) باعث باز و بسته شدن کانال ها می شوند. گیرنده های کند G پروتئینی، که از طریق پیامبرثانویه cAMP نقش خود را ایفا می کنند. اگرچه این دو گیرنده ساختار مشابهی دارند، اما بیشترین عملکرد دوپامین از طریق گیرنده G انجام می گیرد. همه گیرنده های دوپامین پروتئینی با ۴۰۰ اسید آمینه هستند که هفت بار از عرض غشای سلولی عبور می کنند. تغییر کوچک در توالی اسید آمینه ای این گیرنده ها، باعث تغییر در ساختار و عملکرد آنها خواهد شد. دوپامین بر حسب نوع گیرنده هایی که در آن اثر می کند ممکن است تحریک کننده یا باز دارنده باشد (Parillo et al, 2014). بر اساس الگوی پروتئین G، و نحوه عملکرد پیام دهی داخل سلولی، گیرنده دوپامین به دو دسته تقسیم می شوند. گیرنده شبه D1 باعث تحریک آدنیل سیکلات و گیرنده شبه D2 که فعالیت آدنیل سیکلات را مهار می کنند. همچنین براساس کد ژنتیکی این گیرنده ها هر کدام به گروه های زیر طبقه بندی می گردد، طوری که گیرنده شبه D1 به D1, D5 و گیرنده شبه D2 به D2, D3, D4 تقسیم می شوند. (Ayano, 2016).

## ۲-۲-۴- سیستم دوپامینرژیک محیطی

نورون های دوپامینرژیک مرکزی، به نسبت بسیار کم، در حدود کمتر از ۵ درصد از کل سلول های عصبی مغز را تشکیل می دهند، طوری که جسم سلولی آنها نسبت کوچکی از ناحیه مغز را شامل می شود، با این حال، آنها با ارسال طرح به بسیاری از قسمت های دیگر مغز اثرات قوی بر روی اهداف خود می گذارند. همچنین در خارج از سیستم های عصبی مرکزی، نورون های دوپامینرژیک وجود دارند، علاوه بر اینکه آنها کمتر از نوع مرکزی هستند، اما توزیع گسترده ای در قسمت های مختلف بدن دارند، که به عنوان یک پیغام دهنده شیمیایی موضعی عمل می کنند. نقش فیزیولوژی دوپامین همانند سیستم عصبی مرکزی، در ارگانل های محیطی نیز از طریق گیرنده ها اعمال می شود. تحقیقات نشان داده است که گیرنده های محیطی دوپامین با گیرنده های مرکزی، تفاوتی چندانی باهم ندارند و به دو گروه خانواده D1, D2 تقسیم می شود. این گیرنده ها در قسمت های مختلف بافت های بدن از جمله بافت چربی، قلب، رگ های خونی، کلیه، تخمدان، سلول های ایمنی، دستگاه گوارشی توزیع شده اند (Parillo et al, 2014). گیرنده ای D1, D2 دوپامین در رگ های خونی مانع آزاد شدن ترشح نوراپی نفرین و عملکرد اتساع عروقی می شود، تحقیقات انجام شده بر روی گیرنده های دوپامین

نشان می‌دهد که در سیستم کلیوی، گیرنده D1 دوپامین، باعث افزایش نرخ فیلتراسیون و گیرنده D2 موجب تحریک ترشح رنین شده است. عملکرد دیگر این گیرنده‌ها در کلیه، افزایش دفع و خروج سدیم از ادرار است. همچنین در سیستم دستگاه گوارشی، گیرنده‌های دوپامین واقع شده در سلول‌های اپتلیال، باعث کاهش حرکات معدوی - روده ای و محافظت از روده شده و در پانکراس، میزان تولید انسولین و در سیستم‌های ایمنی فعالیت لنفوسیت‌ها را کاهش می‌دهد، اما در این قسمت هنوز نقش آن به طور دقیق مشخص نیست. مطالعات اخیر ثابت کرده است که در قلب گیرنده‌های D1 بیان شده در عضلانی صاف، باعث ریلکس شدن رگ‌ها و کاهش فشار رگی شده، اما گیرنده‌های D2 عمل معکوسی داشته، موجب تحریک اعصاب سمپاتیک و انقباض عروق می‌گردد. همچنین گیرنده‌های دوپامین در سلول‌های گرانولوزا و تکای تخمدان نیز بیان شده است (Venegas et al, 2015) که در قسمت بعدی در مورد عملکرد آن در تخمدان توضیح بیشتری داده خواهد شد.

## ۲-۲-۵- نقش مسیر پیام‌رسانی گیرنده دوپامین بر تنظیم فعالیت محور تولید مثلی

دوپامین بسیاری از فرایندهای رفتاری و تولید مثلی را کنترل می‌کند (Bryant et al, 2016). نقش دوپامین در تنظیم عملکرد تولید مثل در چندین گونه مهره‌داران مطالعه شده است. در تعدادی از پستانداران مثل میمون و رت، جسم سلولی نوروهای دوپامینرژیک در سیستم‌های عصبی مرکزی واقع شده و تعدادی از بافت‌های محیطی مثل تخمدان انشعابات این نوروها را دریافت می‌کنند. گیرنده‌های دوپامین دخیل در محور تولید مثلی با تاثیر بر سلول‌های تخمدان و گنادوتروف در تنظیم محور تولید مثل نقش ایفا می‌کنند. تحقیقات نشان داده است که آنزیم تیروزین هیدروکسیلاز که در سنتز دوپامین و نوراپی نفرین نقش دارد، در تخمدان سنتز می‌شود، بر این اساس پیشنهاد می‌کنند که دوپامین در تخمدان نیز سنتز می‌شود. وجود دوپامین در تخمدان گونه‌های مختلف حیوانی توسط بارس و بن جاناتان اثبات شده است. مطالعات حاکی از این است که گیرنده‌های D1, D2 دوپامین در کورتکس تخمدان انسان، میمون و موش بیان شده است، وجود این گیرنده‌ها در تخمدان نشان می‌دهد که دوپامین در رشد فولیکول و یا عملکرد جسم زرد دارای نقش است. برای اثبات عملکرد این گیرنده‌ها در تخمدان نشان دادند که با بلوکه کردن دوپامین با تزریق زیر پوستی هالوپیریدول و کلرپیرمازول، چرخه استروس به تاخیر افتاد و تخمک گذاری متوقف شد (Meneses et al 2015). همچنین مطالعات آزمایشگاهی نشان می‌دهد سیستم‌های دوپامینرژیک در تخمدان دارای نقش مهمی در تنظیم استروئیدوژنز از

طریق گیرنده ای D1 دارند. استروئیدها در ایجاد تفاوت های جنسی در نتیجه تفاوت های رفتاری و فیزیولوژی در هر دو جنس نر ماده نقش دارند. شواهد نشان می دهد گیرنده های استروئیدی در نبود هورمون های استروئیدی از طریق فعالیت نوروها تنظیم می شوند. و عملکرد ژنومیکی و غیر ژنومیکی استروژن موجب تنظیم سیستم های دوپامینرژیک می شود. به عنوان مثال گیرنده های پروژسترون در نبود هورمون های پروژسترون به وسیله نوروترانسمیترهایی مثل دوپامین فعال می شود. همچنین برای ترشح GnRH، سطح سرمی استرادیول که با فعالیت گیرنده دوپامین در ارتباط است، ضروری می باشد. تحقیقات اخیر نشان می دهد که بلوکه کردن گیرنده ای D2 با هالوپیریدول اثر فیدبک مثبت استروژن روی ترشح گنادوتروپین ها را به تاخیر می اندازد و این باعث تاخیر در رشد فولیکول و تخمک گذاری می شود (Meneses et al, 2015). بنابراین بیان گیرنده های D1.D2 دوپامین در سلول های گرانولوزا و جسم زرد تخمدان در رشد فولیکولها و سنتز استروژن نقش دارند. در محیط آزمایشگاهی اتصال دوپامین با گیرنده های D1 باعث فسفوریلاسیون DARPP32 تیروزین در سلول های گرانولوزا برای سنتز هورمون های استروئیدی مثل استرادیول می شود. این عمل از طریق پروتئین کیناز وابسته به CAMP رخ می دهد. به همین دلیل پیشنهاد می کنند که دوپامین عملکرد آندوکرینی خود را در تخمدان با سنتز هورمون های استروئیدی در سلول های گرانولوزا و جسم زرد تنظیم می کند (Meneses et al, 2015). احتمالاً عمل گیرنده های D2 مرکزی و محیطی دوپامین در تنظیم گنادوتروپین، با اثر فیدبک مثبت (تخمدان) و فیدبک منفی (مغز) روی استروژن سنتز شده در مغز و تخمدان انجام می گیرد.

## ۲-۲-۶- نقش دوپامین در سندروم تخمدان پلی کیستیک

سندروم تخمدان پلی کیستیک یک اختلال هورمونی رایج زنان در سنین باروری است. این سندروم با بسیاری از عوامل کلینیکی و بیوشیمیایی مثل عدم تخمک گذاری، عدم باروری، پرمویی، چاقی، تشخیص داده می شود. افزایش LH و آندروژن یکی از علل اصلی عامل ایجاد این سندروم می باشد (Gonzalez et al, 2005). در بیماران PCOS به نظر می رسد عملکرد محور هیپوتالاموس - هیپوفیز - گناد دچار اختلال شده است. با ترشح غیر عادی گنادوتروپین ها، نسبت LH/FSH افزایش می یابد. این امر موجب حساسیت هیپوفیز به افزایش تولید هورمون های گنادوتروپین ها شده که ناشی از افزایش فیدبک منفی استروژن روی گنادوتروپین ها است. پیشنهاد می شود که افزایش LH در سندروم تخمدان پلی کیستیک می تواند ناشی از کاهش دوپامین باشد. به خاطر کاهش

دوپامین از آگونیست های آن مثل برموکریپتین برای درمان تخمدان پلی کیستیک استفاده می شود. درمان با برموکریپتین غلظت LH و آندروژن پلازما را کاهش داده و موجب بهبود عملکرد تخمدان ها می شود (Chapman et al, 1989). همچنین سندروم تخمدان پلی کیستیک ممکن است ناشی از افزایش فعالیت لاکتوتروف ها به علت اختلال در عملکرد نورون های مغزی باشد، به نظر می رسد بیماران مبتلا به PCOS از کمبود نسبی دوپامین در هیپوتالاموس رنج می برند که این کمبود خود باعث هیپرپرولاکتیمی و تغییر در ترشح GnRH می شوند. دوپامین در افراد طبیعی سبب مهار ترشح پرولاکتین از هیپوفیز می شوند. تحقیقات نشان داده است که تزریق برموکریپتین و گابرگولین که آگونیست های دوپامین هستند می توانند سطح پرولاکتین در هیپوفیز را پایین بیاورند و نهایتاً باعث تنظیم میزان LH می شوند (Hernandez et al, 2000). اخیراً ثابت شده است که گیرنده های پرولاکتین اثر تنظیم کنندگی روی سلول های بتای پانکراس و ترشح انسولین دارند. بنابراین یک ارتباط معنی داری بین سطح پرولاکتین، مقاومت به انسولین در بیماران با سندروم تخمدان پلی کیستیک وجود دارد. به نظر می رسد کاهش دوپامین هیپوتالاموس باعث افزایش بیوسنتز پرولاکتین در زنان چاق هایپر انسولنمیا با PCOS می شود. وجود گیرنده های پرولاکتین در سلول های جزایر لانگرهانس و اثر تحریکی آن روی ترشح انسولین اثبات شده است. بنابراین با افزایش آندوژن دوپامین و مهار ترشح پرولاکتین، می توان میزان انسولین پلازما را کاهش داد و عملکرد تخمدان را بهبود بخشید (Gonzalez et al, 2005).

## ۲-۲-۷- ال - دوپا

ال دوپا یا دهیدروکسی فنیل آلانین از خانواده اسید آمینه است. اولین بار در سال ۱۹۵۰ به عنوان داروی پارکینسون در موش ها مورد آزمایش قرار گرفت. ال دوپا در انسان، حیوانات و گیاهان سنتز می شود. و به عنوان پیش ماده در سنتز نروتراکسمیتر هایی مثل دوپامین، نوراپینفرین و اپی نفرین که به عنوان کاتکول آمین شناخته می شوند، مورد استفاده قرار می گیرد. برخلاف دوپامین، ال دوپا از سد خونی - مغزی عبور می کند، و در سیستم عصبی مرکزی توسط آنزیم آروماتیک L دکربوکسیلاز (دوپا دکربوکسیلاز نیز معروف است) همراه با کوفاکتور پراکسیداز فسفات (ویتامین B6) به دوپامین تبدیل می شود. همچنین ال دوپای موجود در خود سیستم های عصبی مرکزی نیز به دوپامین تبدیل می شود. مطالعات نشان داده است که تزریق ال دوپا آگروژن غلظت دوپامین در مغز را افزایش داد، پیشنهاد شد که بیماری پارکینسون که ناشی از کاهش دوپامین است و ال دوپا به علت

توانایی عبور از سد خونی- مغزی، برای درمان پارکینسون استفاده شود. و می تواند به عنوان گزینه درمانی برای سایر بیماری ها نیز به کار گرفته شود (Stansley et al, 2015).

## ۲-۲-۸- آگونیست و آنتاگونیست های گیرنده دوپامین

دوپامین یک نوروترانسمیتر کاتکول آمینی است، اثر فیزیولوژیکی آن از طریق گیرنده ها اعمال می شود. مطالعات نشان داده که دوپامین و آگونیست های دوپامین توسط هر دو گیرنده D1, D2 سبب مهار مستقیم فعالیت محور هیپوتالاموس - هیپوفیز - گناد می شود. و آنتاگونیست های آن سبب افزایش ترشح GnRH/LH می گردند. بنابراین دوپامین بر حسب نوع گیرنده هایی که دارد ممکن است مهار کننده یا فعال کننده فعالیت های سلولی باشد. روی عمل آگونیست و آنتاگونیست های گیرنده دوپامین مطالعات زیادی صورت گرفته است و انواع مختلفی از آگونیست آنتاگونیست آن شناسایی و معرفی شده است. ما در این قسمت برای سهولت، تعداد کمی از آنها را که در تولید مثل دخیل بودند را معرفی می کنیم. آگونیست های دوپامین مثل بروموکریپتین (آگونیست گیرنده D2 دوپامین) نقش مهمی در ترشح پرولاکتین از هیپوفیز را تقلید می کند. همچنین بروموکریپتین تخمک گذاری را در بیماران مبتلا به هایپرپرولاکتنمی و عدم تخمک گذاری، را تحریک می کند. کابرگولین (آگونیست گیرنده D2 دوپامین) در درمان هایپر پرولاکتنمی و تراوش شیر استفاده می شود (Falachi et al, 1986). SKF (آگونیست گیرنده D1) یک داروی سنتیکی بنزازپین است که از طریق گیرنده D1 عمل می کند. SCH (آنتاگونیست گیرنده D1) ترکیب سنتیکی است که بیشتر به عنوان آنتاگونیست گیرنده D1 عمل می کند و تمایل کمتری به گیرنده D2 دارد. یک ترکیب شیمیایی با نیمه عمر تقریباً ۲۵ دقیقه بعد از تزریق است. طی مطالعات انجام شده روی اثر دوپامین بر ترشح GnRH نشان داده شده است که انتهای عصب دوپامین و GnRG در ناحیه پری اپتیک میانی از طریق سیناپس ها با هم ارتباط دارند. با بلوکه کردن گیرنده های دوپامین از طریق آنتاگونیست SCH مشاهده شد که ترشح GnRH از سلول های GT1 افزایش یافته است. بنابراین می توان بیان کرد که آنتاگونیست دوپامین عمل تحریکی روی GnRH/LH دارد (Martinez et al, 1992). طبق نتایج به دست آمده سولپرید (آنتاگونیست گیرنده D2 دوپامین) باعث افزایش غلظت پرولاکتین سرم می شود. مکانیسم اثر این دارو بلوکه کردن گیرنده D2 است که باعث کاهش غلظت دوپامین هیپوتالاموس و افزایش تولید پرولاکتین

می‌شود. و افزایش پرولاکتین سرمی باعث کاهش کیفیت اسپرم و ایجاد تغییرات پاتولوژیک آن می‌گردد، که می‌تواند بر لقاح و رشد جنینی اثر بگذارد (Ahmadi et al, 2014).

## ۲-۳-آروماتاز

اولین مطالعات روی آنزیم آروماتاز به سال ۱۹۳۰ برمی‌گردد، زمانی که محققان موفق به کشف و شناسایی آندروژن و استروژن و نقش این آنزیم در تبدیل آندروژن به استروژن شدند (Santen et al, 2009). آنزیم آروماتاز متعلق به خانواده سیتوکروم P450 است که ۳ واکنش متوالی هیدروکسیلاسیون را کاتالیز می‌کند. بنابراین آروماتاز یک آنزیم کلیدی در تبدیل آندروژن به استروژن در شبکه آندوپلاسمی می‌باشد. این آنزیم شامل دو پلی‌پپتید است یکی از آنها سیتوکروم P450 ویژه بوده که آروماتاز سیتوکروم P450 نیز نامیده می‌شود (Bulun et al, 2005). سیتوکروم P450 مونو اکسژناز گروه پروتئینی هستند که نقش مهمی در متابولیسم ترکیبات مختلف در بسیاری از اندام‌های موجود در بدن گروه‌های مختلف جانوری مثل انسان، موش، رت، میمون دارند. و از نظر فیزیولوژی در مسیر سنتز هورمون استروئیدی، پروستاگلاندین، ویتامین D درگیر می‌باشند (Santen et al, 2009). و گروه دوم فلاوپروتئین‌ها هستند که NADPH<sup>۵</sup> سیتوکروم P450 ردکتاز نامیده می‌شود. ژنوم انسان و موش دارای حداقل ۵۰ ژن سیتوکروم P450 است که به ۱۰ خانواده طبقه بندی می‌شوند. این پروتئین دارای توالی اسید آمینه ای و دومین‌های عملکردی است (Bulun et al, 2005). مطالعات زیادی روی عملکرد فیزیولوژی این آنزیم، به دلیل اینکه دارای اهمیت زیادی در تولید استروژن و همچنین در تولید مثل و فرایند متابولیک داشته، انجام گرفته است. تحقیقات نشان می‌دهد سنتز استروژن برای عملکرد طبیعی چرخه جنسی و همچنین حفظ تولید مثل نیاز است (Santen et al, 2009). به هر حال ثابت شده است بیان غیر نرمال آروماتاز و بیوسنتز استروژن نقش مهمی در پیشرفت سرطان سینه دارند. مطالعاتی که اخیراً انجام گرفته است نشان می‌دهد که در سندروم تخمدان پلی کیستیک در سلول‌های گرانولوزای تخمدان، بیان آروماتاز کاهش می‌یابد در این صورت تبدیل آندروژن به استروژن رخ نداده که منجر به افزایش آندروژن در نهایت موجب ایجاد PCOS می‌گردد (Eckmann et al, 2009).



## ۲-۳-۱- ساختار ژنی آروماتاز

تحقیقات نشان می‌دهد در رت دو پروموتور I و II برای تنظیم بیان ژن آروماتاز وجود دارد. پروموتور II (مبدا) باعث کنترل بیان آروماتاز در سلول‌های گرانولوزا و تکای تخمدان و سلول‌های لایدیک شده و پروموتور های I (انتهایی) باعث تنظیم بیان آروماتاز در مغز می‌شود، هر دو پروموتور با پروتئین مشابه کد می‌شود، تجربیات نشان می‌دهد که ۱۶۰ kb پروموتور تخمدان، در تنظیم cAMP و PGE2 در سلول‌های گرانولوزا موثر است. این آنزیم توسط ژن cyp19 کد می‌شود، ژن cyp19 روی کروموزوم 15q.21.2 قرار دارد. بیان آروماتاز در مغز و بافت‌های محیطی ماهی‌ها، پرندگان، پستانداران دیده شده است. همچنین در انسان آروماتاز در بافت‌هایی مثل جفت، استخوان، بافت چربی، تخمدان، مغز، بیان می‌شود (Bulun et al, 2005 & Aggarwal et al, 2014). سطح بیان این آنزیم در مغز نسبت به تخمدان پایین است. به دلیل اینکه در طول بارداری نسخه برداری از آروماتاز فقط در تخمدان و جسم زرد انجام می‌گیرد و نقش آروماتاز‌های مغز در این دوران خیلی کم است همچنین مطالعات نشان می‌دهد که جایگاه اولیه بیان آروماتاز قبل از قاعدگی فولیکول‌های تخمدان بوده، که FSH موجود در این قسمت بیان آروماتاز را القا می‌کند. بعد از قاعدگی بافت‌های چربی نیز در بیان آروماتاز نقش خواهند داشت (Bulun et al, 2005).

## ۲-۳-۲- عملکرد بیولوژیکی آروماتاز در بافت‌های مختلف

### ۲-۳-۲-۱- جفت:

مطالعاتی که روی جفت در زنان یاردار صورت گرفته است نشان می‌دهد که در اواخر بارداری ۲۰mg/d استرادیول توسط آروماتاز در جفت تولید می‌شود. ثابت کرده اند که مقدار آروماتاز در طول بارداری افزایش می‌یابد از این جهت پیشنهاد می‌کنند که این افزایش احتمالاً می‌تواند به دلیل افزایش کورتیزول در این دوران باشد. بیشترین محصولی که از آروماتاز در طول بارداری تولید می‌شود، استریول است که مقدار آن تقریباً ۱۰۰-۱۵۰ mg/d است که این مقدار ۷ تا ۱۰ برابر بیشتر از استرادیول می‌باشد چون که استریول به سهولت در داخل بافت‌ها قرار می‌گیرد و به SHBG (حامل استروئید در خون) به صورت محکم متصل نمی‌شود، در مقابل اگر چه سطح استرادیول در خون مادر بیشتر از استریول است بدلیل اینکه در طول بارداری مقدار SHBG در

گردش خون زیاد بوده و استرادیول تمایل بیشتری برای اتصال به آن دارد و کمتر در داخل بافت‌ها قرار می‌گیرد. تحقیقات پیشنهاد می‌کند که استریول به عنوان یک استروژن اصلی، نقش کلیدی در بارداری دارد و مانع سرطان سینه ناشی از افزایش بیان آروماتاز می‌شود (Santen et al, 2009).

#### ۲-۳-۲-۲- استخوان:

با مطالعه روی فیزیولوژی استخوان مشاهده شده است که استروژن برای بلوغ اپی فیز استخوان لازم است. همچنین استروژن با میزان ترکیبات معدنی استخوان رابطه مستقیمی داشته طوری که ثابت شده است که آروماتیزه شدن آندروژن باعث محافظت جرم استخوان در مردان می‌شود. آزمایشات اخیری که روی استخوان انجام گرفته است، نشان می‌دهد که تخریب آنزیم آروماتاز روی فنوتیب استخوان اثر گذاشته و به مرور موجب کاهش حجم و ترکیبات آلی آن می‌شود (Santen et al, 2009).

#### ۲-۳-۲-۳- پروستات:

علاوه بر وجود آروماتاز در بافت‌های مختلف، این آنزیم در بافت پروستات نیز مشاهده شده است. تحقیقات نشان می‌دهد آروماتاز در سرطان بدخیم و خوش خیم پروستات نقش دارد. محققان پیشنهاد دادند که در پروستات خوش خیم به طور غالب سلول‌های استروما و در پروستات بدخیم هر دو سلول استروما و سلول سرطانی محتوی آنزیم آروماتاز هستند که افزایش بیان این آنزیم در این بافت‌ها موجب ایجاد تومور پروستات می‌شود. مطالعه آروماتاز روی موش‌ها، نقش بیولوژی آروماتاز و آگونیست‌های آن در سرطان پروستات را نشان داده است. هنوز مکانیسم عمل آن به طور کامل مشخص نشده است. (Santen et al, 2009)

#### ۲-۳-۲-۴- بیضه:

نمو بیضه، حفظ اسپرماتوژنز توسط گنادوتروپین‌ها و تستوسترون، توسط فاکتورهایی مثل استروژن کنترل می‌شود. شناسایی سیتوکروم P450 آروماتاز، در سلول‌های بیضه موضوع جالب در دهه‌های اخیر است. در هنگام میوز و قبل از میوز در موش‌ها و رت‌ها فعالیت آروماتاز مشاهده شده است. مطالعات نشان می‌دهد که استروژن در تحرک اسپرم‌ها نقش دارد و عدم بیان آروماتاز موجب کاهش تحرک اسپرم و نازایی می‌شود. همچنین عدم بیان آروماتاز در بیضه می‌تواند باعث ناباروری در رت ناشی از اختلال در اسپرماتوژنز در اثر کمبود اسپرم باشد. محققان گزارش کرده‌اند که آروماتاز در قسمت‌های مختلف بافت بیضه در گونه‌های مختلف پستانداران، موش،

میمون، خرس در سلول های لایدیک، سروتولی اسپرماتید، گونوسیت، وجود دارد. در انسان سلول های لایدیک منبع استروژن معرفی شده است، به هر حال در invitro هر دو سلول های لایدیک و سرتولی استروژن مشاهده شد. در چندین مطالعه گزارش شده است که اختلال در بیوسنتز استروژن در اثر جهش در ژن cyp19 موجب اختلال در تولید مثل در مردان می شود. (Lambard et al, 2005).

### ۲-۳-۳- نقش استروژن / آروماتاز در تولید مثل مردان

استرادیول به عنوان یک فاکتور مهم برای اسپرماتوژنز است و تولید مثل مردان تا حدودی تحت کنترل استروژن کاتالیز شده توسط آروماتاز است. حداقل دو نوع گیرنده آلفا و بتا استروژن در بیضه و نقش آنها در تولید مثل مردان گزارش شده است. نشان دادند که تزریق دوز پایینی از استرادیول به بیضه فرایند اسپرماتوژنز را تسریع می کند و در مقابل دوز بالایی از آن باعث آسیب بیضه و آتروپی آن می شود. مطالعات نشان داده است که نقص در گیرنده  $\alpha$  استروژن در موش ها موجب اختلال در اسپرماتوژنز و در نتیجه ناباروری در موش ها می شود. نقش استروژن در تولید مثل مردان به نسبت آندروژن / استروژن بستگی دارد، به عبارت دیگر با تنظیم بیان ژن cyp19 در ارتباط است. محققان ثابت کرده اند آندروژن نقش مهاری روی ترشح گنادوتروپین ها داشته و مانع آزاد سازی GnRH توسط هیپوفیز می شود. مطالعات آزمایشگاهی نشان داده که با تزریق مهار کننده آروماتاز به موش ها، مقدار استروژن کاهش یافته در حالی که میزان تستوسترون و LH افزایش می یابد. در نتیجه اثر فیدبک منفی تستوسترون روی LH مختل می شود. بنابراین تحقیقات ثابت می کند که تبدیل تستوسترون به استرادیول توسط آروماتاز برای اعمال مکانیسم فیدبک منفی تستوسترون بر آزاد سازی LH ضروری است و با تنظیم بیان ژن آروماتاز می توان فرایند تولید مثلی در مردان را کنترل کرد (Lambard et al, 2005 & Bulun et al, 2005).

### ۲-۳-۴- نقش استروژن / آروماتاز در تولیدمثل زنان

استروژن برای باروری جنس نر و ماده یکی از فاکتورهای مهم شناخته شده است. در تخمدان عمل استروژن با ترشح گنادوتروپین های هیپوفیز تنظیم می شود تا تولید و رشد فولیکول های تخمدان را فراهم کند. همچنین استرادیول ساختار و عملکرد بافت های تولید مثلی جنس ماده مثل رحم و لوله های رحم و عملکرد نورون های هیپوفیز روی آنها را تنظیم می کند. مطالعات نشان می دهد که بیوسنتز استروژن توسط آروماتاز در تنظیم ترشح هورمون LH دارای نقش کلیدی است. همچنین تحقیقات نشان داده که بیان آروماتاز در سلول های

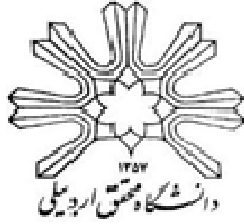
ویژه مثل گرانولوزا، جسم زرد، سلول های تکا و فولیکول، در فرایند نرمال چرخه استروس در انسان مهم است. در نتیجه در اثر عدم بیان آروماتاز در تخمدان فرایند نرمال آروماتیزه شدن آندروژن و بیوسنتز استروژن دچار اختلال شده و در نهایت تنظیم ترشح هورمون های LH به هم خورده و به دنبال آن حالت سندروم تخمدان پلی کیستیک در زنان مشاهده شده است (Bulun, 1991).

### ۲-۳-۵- فاکتور های دخیل در بیان آروماتاز

فاکتورهای مختلفی برای بیان آروماتاز در سلول های گرانولوزا دخیل هستند، مطالعات نشان داده است که FSH، القاکننده اصلی فعالیت آروماتاز در سلول های گرانولوزا است. با این حال اثر FSH نیز توسط فاکتور های دیگر تنظیم می شود. برخی از این فاکتور ها، استرادیول، آندروژن، فاکتور های شبه انسولین است. ثابت شده است اثر استرادیول روی FSH در سلول های گرانولوزا برای تمایز و سلامتی فولیکول ها قبل از تخمک گذاری ضروری می باشد. و در رشد فولیکول ها نقش مهمی دارد. همچنین آندروژن نیز اثر FSH برای بیان آروماتاز را القا می کنند. شواهد نشان می دهد که عمل FSH با فعالیت گیرنده آندروژن تنظیم می شود. اثر القا کنندگی آندروژن روی FSH با افزایش سطح cAMP تحریک می شود. در موش صحرایی بیان گیرنده آندروژن بیشترین مقدار را در فولیکول های پری آنترال و آنترال دارد، و به تدریج در فولیکول های بالغ افزایش می یابد در این زمان بیان آروماتاز نیز افزایش می یابد. این یافته ها پیشنهاد می کند که عمل آندروژن روی FSH در حالت اولیه باعث رشد فولیکول ها می شود و اما در زمان پایانی نمو فولیکول آندروژن اساسا به عنوان پیش ماده برای استروژن عمل می کند. همچنین در سلول های گرانولوزای موش عمل FSH توسط فاکتور رشد شبه انسولین تقویت می شود (IGF1). این فاکتور اثر FSH و تستوسترون را باهم برای بیان آروماتاز القا می کند. به هر حال شواهد نشان می دهد بین IGF1 و تحریک آروماتاز ( با پروتئین های متصل شونده با IGF1 بنام  $4^{\vee}$  IBFBP) ارتباطی وجود دارد. IGF1 احتمالا با تقویت ظرفیت پاسخ سلول های گرانولوزا به FSH عمل می کند (Hefnawy et al, 2001).

همچنین در سلول های گرانولوزای انسان IGF1 به تنهایی تولید استروژن را برای القای FSH افزایش می دهد. مطالعات اخیر ثابت می کند cAMP پیامبر داخل سلولی، هم تنظیم کننده FSH برای القای بیان آروماتاز است. افزایش سطح cAMP داخل سلولی توسط FSH منجر به فعالیت پروتئین کیناز می شود. دو توالی درژنی

<b>Family name:</b> Haghighat gollo	<b>Name:</b> Khadijeh
<b>Title of Thesis :</b> The effects of dopaminergic pathway on mean relative gene expressions of <i>adiponectin</i> and <i>aromatase</i> in induced polycystic ovarian syndrome model rats	
<b>Supervisor s:</b> Abolfazl Bayrami (Ph.D)- Fariba Mahmoudi (Ph.D)	
<b>Advisor:</b> Saber Zahri (Prof)	
<b>Graduate Degree:</b> M.Sc.	
<b>Major:</b> Biology	<b>Specialty:</b> Animal physiology
<b>University:</b> Mohaghegh Ardabili	<b>Faculty:</b> sciences
<b>Graduation date:</b> 2018/1/14	<b>Number of pages:</b> 69
<p><b>Abstract</b></p> <p>Polycystic ovary syndrome (PCOS) is the most common endocrine disorder in women and it is the most important causes of infertility derived of anovulation. Aromatase is an enzyme which converts testosterone to estradiol. In PCOS patients the levels of androgens increase because of the dysfunction of steroidogenesis enzymes actions and they have lower levels of aromatase enzyme activity and serum adiponectin. But the plasma insulin levels are high in PCOS patient. In the present study the effects of L-dopa and dopamine receptor antagonists were investigated on relative <i>adiponectin</i> and <i>aromatase</i> gene expressions in the ovary of PCOS model rats. Polycystic ovary syndrome was induced in Wistar female rats weighing 170-220g by intramuscular injections of estradiol valerate. The fifteen PCOS rats in three groups received saline, L-dopa(100mg/kg) or simultaneous injections of sulpride(10mg/kg), SCH23390 hydrochloride (1mg/kg) and L-dopa(100mg/kg) via intraperitoneal injection respectively. Also, five intact estrous rats as a control group received saline intraperitoneally. Mean relative <i>adiponectin</i> and <i>aromatase</i> gene expressions were determined by real time polymerase chain reaction (RT-PCR) method. The data were analyzed by SPSS software and using independent t-test and one- way ANOVA followed by post hoc Tukey test. In all cases, significance was defined by <math>p \leq 0.05</math>. The results showed that Injections of L-dopa did not significantly increase mean relative <i>adiponectin</i> gene expressions in the ovary in comparison to PCOS rats. But it significantly increased the mean relative ovary <i>aromatase</i> gene expressions in comparison to PCOS rats. Injections of l-dopa following the blocking the dopaminergic receptors by sulpride and SCH23390 caused a reduction in mean relative ovary <i>aromatase</i> and <i>adiponectin</i> gene expressions in comparison to L-dopa group but these decreases were not statistically significant. Dopaminergic signaling pathways may play an important role in controlling the disorders derived of excessive androgens levels in PCOS rats via regulating the <i>aromatase</i> synthesis.</p>	
<b>Keywords:</b> <i>adiponectin</i> , <i>aromatase</i> , , L-dopa, PCOS ,SCH23390	



**University of Mohagheh Ardabili**

**Faculty of sciences**

**Department of Biology**

**Thesis submitted in partial fulfilment of the requirements for the degree of  
M.Sc. in Biology (Animal physiology)**

Title:

**The Effects of Dopaminergic Pathway on Mean Relative Gene  
Expressions of *Adiponectin* and *Aromatase* in Induced Polycystic Ovarian  
Syndrome Model Rats**

Supervisors:

**Abolfazl Bayrami (Ph. D)**

**Fariba Mahmoudi (Ph. D)**

Advisor:

**Saber Zahri (Prof)**

By:

**Khadijeh Haghghat gollo**

**January – 2018**