

## Alteration of Neurokinin B Gene Expression and Hypothalamic-Pituitary-Gonadal Axis in Response to One-month Regular Moderate Physical Activity

Nazli Khajehnasiri<sup>1</sup>, Homayoun Khazali<sup>2\*</sup>, Farzam Sheikhzadeh Hesari<sup>3</sup>

1.Ph.D. Student, Department of Animal Sciences, Faculty of Biological Sciences and Technology, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran.

2.Associate Professor, Department of Animal Sciences, Faculty of Biological Sciences and Technology, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran.

3.Associate Professor, Department of Animal Sciences, Faculty of Natural Sciences, Tabriz University, Tabriz, Iran.

Received: 8 Apr 2017, Accepted: 22 Jul 2017

### Abstract

**Background:** The advantageous effects of the regular moderate physical activity (Exercise) on reproduction is widely accepted, but until now, the alterations of the expression of hypothalamic arcuate nuclei gene affecting on reproduction axis in response to this type of physical activity are not clear. Therefore, the goal of the present investigation was to study the effect of one –month regular moderate physical activity on neurokinin B gene expression and reproductive axis hormonal changes.

**Materials and Methods:** In the experimental study, fourteen adult male Wistar rats were randomly divided into control and one- month regular moderate exercise groups. After one - month physical activity (20m/min), the arcuate nucleus was isolated from brain and stored in -80 refrigerators for neurokinin B gene expression assay by Real-time PCR method. In addition, serum samples were taken to assess the corticosterone, luteinizing hormone and testosterone levels by ELISA method. Data were analyzed by Independent t-test in SPSS.

**Results:** Neurokinin-B gene expression level was lower in the group which received physical activity than the control group( $p<0.05$ ). Also, corticosterone serum concentration was decreased in the physical activity group( $p<0.05$ ). By contrast, the physical activity induced luteinizing hormone and Testosterone serum levels evaluation in exercise group compared with control group ( $p<0.05$ ).

**Conclusion:** Regular moderate physical activity may improve male reproductive performance by reducing the corticosterone hormone level and decreasing neurokinin B expression.

**Keywords:** Corticosterone, Neurokinin-B, Physical activity, Reproductive axis.

\*Corresponding Author:

Address: Department of Animal Sciences, Faculty of Biological Sciences and Technology, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran

Email: Homkhazali@yahoo.com

## تغییرات بیان ژن نوروکینین B و محور هیپوتالاموس - هیپوفیز - گناد جنس مذکر در پاسخ به فعالیت بدنی متوسط و منظم یک ماهه

نازلی خواجه نصیری<sup>۱</sup>، همایون خرعلی<sup>۲\*</sup>، فرزام شیخ زاده حصار<sup>۳</sup>

۱. دانشجوی دکتری، گروه علوم جانوری، دانشکده علوم و فن آوری زیستی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران

۲. دانشیار، گروه علوم جانوری، دانشکده علوم و فن آوری زیستی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران

۳. دانشیار، گروه علوم جانوری، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

تاریخ دریافت: ۹۶/۱/۱۹ تاریخ پذیرش: ۹۶/۴/۳۱

### چکیده

**زمینه و هدف:** اثرات مفید فعالیت بدنی (ورزش) متوسط و منظم بر بهبود عملکرد تولید مثل مشخص شده است، اما تاکنون تغییرات بیان ژن‌های تاثیرگذار بر محور تولید مثلی موجود در هسته قوسی هیپوتالاموس در پاسخ به این نوع ورزش بررسی نشده است. از این رو، در مطالعه حاضر، تاثیرات فعالیت بدنی متوسط و منظم یک ماهه بر بیان ژن نوروکینین B و تغییرات هورمونی محور تولیدمثلی بررسی شد.

**مواد و روش‌ها:** در این مطالعه تجربی، چهارده سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار  $250 \pm 50$  به طور تصادفی به دو گروه کنترل و ورزش متوسط و منظم یک ماهه تقسیم شدند. هسته قوسی حیوانات پس از یک ماه فعالیت بدنی با شدت ۲۰ متر در دقیقه از کل مغز جدا شده و برای سنجش بیان ژن نوروکینین B به کمک روش Real time-PCR در فریزر ۸۰- نگهداری شدند. هم چنین، نمونه سرم نیز از طریق روش الایزا برای ارزیابی سطوح هورمون‌های لوتئینه کننده، کورتیکواسترون و تستوسترون تهیه شد. داده‌ها به روش تی تست در نرم افزار SPSS تحلیل شدند.

**یافته‌ها:** بیان ژن نوروکینین B در گروه تیمار با ورزش نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری یافت ( $p < 0.05$ ). سطح سرمی هورمون کورتیکواسترون در گروه تیمار با ورزش نیز کاهش داشت ( $p < 0.05$ ). در حالی که سطوح سرمی هورمون لوتئینه کننده و تستوسترون در گروه ورزش نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری نشان داد ( $p < 0.05$ ).

**نتیجه‌گیری:** فعالیت بدنی متوسط و منظم با کاهش سطح هورمون کورتیکواسترون و کاهش بیان نوروکینین B احتمالاً موجب بهبود عملکرد محور تولید مثلی جنس مذکر می‌گردد.

**واژگان کلیدی:** فعالیت بدنی، نوروکینین B، محور تولید مثلی، کورتیکواسترون

\*نویسنده مسئول: ایران، تهران، دانشگاه شهید بهشتی، دانشکده علوم و فن آوری زیستی، گروه علوم جانوری

Email: Homkhazali@yahoo.com

## مقدمه

نوروکینین B (NKB) که توسط ژن TAC3 در انسان و Tac2 در جوندگان کد می‌گردد، جزء خانواده تاکینین‌ها محسوب می‌شود (۱). در دهه ۱۹۹۰ نقش نوروکینین B در فیدبک منفی استروئیدهای جنسی در محور تولید مثلی شناخته شد اما تا سال ۲۰۰۹ چندان مورد توجه قرار نگرفت، تا اینکه در سال ۲۰۰۹ با مشاهده بیماری‌هایی که به علت نقص در ژن نوروکینین B و گیرنده آن (NK3R) مبتلا به هیپوگنادیسم هیپوگنادوتروپیک و ناباروری شده بودند، مشخص گردید که سیگنالینگ NKB و گیرنده آن دارای نقشی اساسی در محور تولید مثلی انسان می‌باشد، به طوری که در این افراد فرآیند تکامل بلوغ متوقف شده و سطوح سرمی پایینی از هورمون لوتئینه کننده (LH) و استروئیدهای جنسی مشاهده می‌شود (۲). تزریق پالسی هورمون آزاد کننده گنادوتروفین‌ها (GnRH) به این افراد، بازگشت ترشح LH به حالت نرمال در مردان و تخمک‌گذاری و بارداری طبیعی در زنان را در پی داشت، این نتایج نشان می‌دهند که نقص گنادوتروفین ناشی از اختلال در مسیر پیام‌رسانی نوروکینین B، در سطح هیپوتالاموس است (۳).

ژن کد کننده نوروکینین B و گیرنده آن، در هسته قوسی هیپوتالاموس که مرکز اصلی تنظیم عملکرد نورون‌های GnRH می‌باشد، بیان می‌شوند (۱). بررسی‌ها نشان دادند که دسته‌ای از فیبرهای نوروکینین B از هسته قوسی به سمت ناحیه برجستگی میانی کشیده می‌شوند (۴). این فیبرهای عصبی با جسم سلولی و انتهای آکسونی نورون‌های GnRH ارتباط برقرار کرده و گیرنده نورپپتید مزبور را دارا می‌باشند (۵). مطالعات بسیار گسترده در رابطه با اثر نوروکینین B و آگونیست گیرنده NK3R (Sentktide) صورت گرفته است و نتایج این بررسی‌ها نشان داده است که نقش نوروکینین B و Sentktide بر نورون‌های GnRH بسیار پیچیده و متضاد است (۴)، تغییرات ترشح LH در پاسخ به نوروکینین B و گیرنده آن، بسته به مدل حیوان آزمایشگاهی مورد مطالعه، نحوه تزریق و وضعیت گنادها متفاوت است. اکثر مطالعات صورت گرفته بیان‌گر نقش تحرکی این نورپپتید بر ترشح LH در بسیاری از پستانداران

می‌باشد (۴). به عنوان مثال تزریق داخل وریدی آگونیست گیرنده نوروکینین B در میمون موجب تحریک ترشح LH می‌گردد در حالی که در جوندگان اکثر بررسی‌های صورت گرفته، حاکی از آن است که NKB بر ترشح LH نقش مهاری دارد (۶، ۷). تعدادی از محققین نیز معتقدند که نوروکینین B در دوز بالای استروئیدهای جنسی اثر مهاری داشته و در دوز پایین این هورمون‌ها (نظیر شیردهی) اثر تحرکی ایفا می‌کند (۸).

بررسی‌های متعدد نشان دادند که استرس بر تغییرات نوراندوکرینولوژی موثر در فرآیندهای اسپرماتوژنر و تخمک‌گذاری طبیعی، تاثیرگذار می‌باشد (۹). از دیرباز نقش مهاری استرس بر تولیدمثل مشخص شده است (۱۰). استرس به عنوان یکی از عوامل تاثیرگذار در توانایی باروری مردان شناخته شده است به عنوان مثال برخی از بررسی‌ها نشان دادند که میزان اسپرم مردان در مواجهه با استرس‌های روانی کاهش می‌یابد (۱۱). گیرنده گلیکوکورتیکوئیدها (مثلی از هورمون‌های استرسی) در نورون‌های GnRH شناسایی شده است. محققین اذعان نمودند که تیمار با گلیکوکورتیکوئیدها بیان mRNA ژن GnRH را کاهش می‌دهد (۱۲) و ترشح LH را در هر دو جنس کاهش می‌یابد (۹).

ورزش محور هیپوتالاموس - هیوفیز - گناد را متأثر می‌سازد. تحقیقات بسیاری تغییرات این محور توسط دوره‌ها و شدت‌های متفاوت ورزش را در جنس مونث نشان دادند، به عنوان مثال افرادی که ورزش‌های نظیر دویدن، شنا، دوچرخه‌سواری را انجام می‌دهند شیوع بالای اولیگو آمنوره مشاهده می‌شود. برخلاف مطالعات وسیع در رابطه با تاثیر ورزش بر محور تولید مثلی جنس مونث، بررسی‌های بسیار محدودی در زمینه اثرات ورزش بر محور تولید مثلی جنس مذکر صورت گرفته است (۱۳)، در بین مطالعات صورت گرفته نیز نتایج متناقض به چشم می‌خورد، مثلاً Grandys و همکاران نشان دادند که افزایش شدت تمرین در دوندگان دو سرعت موجب کاهش سطح تستوسترون می‌گردد (۱۴)، در ضمن manna و همکاران نشان دادند که ورزش شدید شنا موجب ایجاد اختلال در فرآیند گامتوژنر و نیز تولید استروئیدهای جنسی در موش‌های صحرائی نر تیمار شده با ورزش

متحده آمریکا 1996. NIH. No Publications)  
(revised 23-80 انجام پذیرفت.

موش‌های صحرایی به طور تصادفی به دو گروه هفت‌تایی شامل گروه کنترل و گروه ورزش متوسط و منظم یک ماهه تقسیم شدند. موش‌های صحرایی در گروه‌های ورزش متوسط و منظم به مدت ۵ روز در هفته روزانه ۶۰ دقیقه با سرعت ۲۰ m/min (۱۹) به مدت یک ماه بر روی تردمیل ورزش نمودند. به منظور گرم شدن حیوانات، سرعت دستگاه در عرض ۱۰ دقیقه ابتدائی از ۵ m/min به ۲۰ m/min رسانده شد و در ضمن در ۱۰ دقیقه انتهایی نیز سرعت به تدریج به ۵ m/min کاهش یافت، که این امر نیز برای برگشتن حیوانات به حالت اولیه بود. موش‌های صحرایی گروه‌های کنترل نیز در حالی که دستگاه خاموش بود به همان مدت روی تردمیل قرار داده شدند (۱۹). ۲۴ ساعت بعد از آخرین روز ورزش، قبل از ظهر، تمامی موش‌های صحرایی با تزریق داخل صفاقی کتامین (۱۰۰ mg/kg) و زایلازین (۵ mg/kg) بی‌هوش گردیدند (۱۹) نمونه خونی از سینوس چشمی حیوانات تهیه، سرم آن جدا شده و تا زمان سنجش هورمون‌های لوتئینه کننده، تستوسترون و کورتیکواسترون در فریزر  $8^{\circ}\text{C}$  - نگهداری شدند. بلافاصله بعد از خون‌گیری سر توسط گیوتین از ته جدا شده و در ادامه با شکافتن جمجمه مغز بلافاصله خارج شد. در نهایت سطح شکمی مغز به سمت بالا قرار داده شد و برشی به ضخامت ۴ mm حاوی هیپوتالاموس (از سمت جلو از مجاورت اپتیک کیاسما، از سمت پشت تا مجاورت دستگاه پستانی تالاموسی و به طور جانبی تا شیار - هیپوتالاموسی) تهیه گردید و هسته قوسی جداسازی شد (۲۰). تمامی نمونه‌ها در فریزر  $8^{\circ}\text{C}$  - تا زمان سنجش Real time-PCR نگهداری شدند. از سرم خون‌های تهیه شده جهت سنجش سطح هورمون‌های لوتئینه کننده، تستوسترون و کورتیکواسترون استفاده شد. مراحل سنجش الایزا بر طبق دستور عمل کیت‌های مختص موش صحرایی Cusabio و Bioassay Technology Laboratory با درصد درون آزمونی ( $CV < 10\%$ ) صورت گرفت لازم به ذکر است سنجش الایزا به صورت دوبلیکیته انجام شد. به منظور بررسی بیان ژن‌ها،

می‌گردد (۱۵) اما بسیاری از محققین نیز اثرات مفید ورزش متوسط بر محور هیپوفیز - گناد را نشان دادند به عنوان مثال اکثر مطالعات صورت گرفته حاکی از افزایش سطوح هورمون تستوسترون و بهبود عملکرد تولیدمثلی افراد تحت تیمار با ورزش می‌باشد (۱۶، ۱۷). علاوه بر نقش ورزش بر محور تولید مثلی، فعالیت بدنی بر عملکرد محور هیپوتالاموس / هیپوفیز / آدرنال نیز تاثیر گذار می‌باشد (۱۸).

با توجه به تحقیقات پیشین فعالیت بدنی موجبات تغییر در سطوح هورمون‌های هیپوفیزی (LH) و استروئیدهای جنسی را فراهم می‌سازد اما تاکنون گزارش چندانی در رابطه با نحوه اثرگذاری ورزش متوسط و منظم، در سطوح هیپوتالاموسی محور تولید مثلی ارائه نشده است. از اینرو با توجه به نقش کلیدی نورون‌های نوروکینین B موجود در هسته قوسی هیپوتالاموس در تنظیم عملکرد نورون‌های GnRH و اثرات هورمون‌های استرسی بر محور تولیدمثلی در این پژوهش به بررسی تغییرات بیان ژن Tac2 (در هسته قوسی) و سطوح هورمون لوتئینه کننده، تستوسترون و کورتیکواسترون در سرم خونی موش‌های صحرایی نر تحت تیمار با ورزش متوسط و منظم یک ماهه پرداخته شده تا تغییرات هیپوتالاموسی ناشی از فعالیت بدنی متوسط و منظم بر محور تولیدمثلی تا حد ممکن مشخص گردد.

## مواد و روش‌ها

چهارده سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با محدوده وزنی  $250 \pm 50$  گرم، از انیستتو پاستور ایران خریداری شده و به آزمایشگاه فیزیولوژی انتقال یافتند. حیوانات به مدت دو هفته برای رسیدن به حالت پایه و رفع استرس در شرایط آزمایشگاه نگهداری شدند. در طول دوره آزمایش دمای محل نگهداری حیوانات برابر با  $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$  بود و هم‌چنین موش‌های صحرایی در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی (۷ صبح تا ۷ شب) با دسترسی آزادانه به آب و غذا نگهداری شدند. آزمایشات با تاییدیه کمیته اخلاق پزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی و با توجه به راهنمای استفاده و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی منتشر شده توسط انستیتوی ملی سلامت ایالات

۱ ارائه شده است. برنامه دمائی - زمانی ریل تایم برای ۴۵ سیکل نیز شامل  $95^{\circ}\text{C}$  به مدت ۳۰ ثانیه،  $60^{\circ}\text{C}$  به مدت ۲۵ ثانیه و  $72^{\circ}\text{C}$  به مدت ۳۰ ثانیه بود. پس از پایان مراحل - Real time PCR سطوح mRNA نسبی با استفاده از روش  $2^{-\Delta\text{CT}}$  محاسبه شد (۲۱). در انتها داده‌های سطح هورمونی، هورمون لوئینه کننده، کورتیکواسترون، تستوسترون و داده‌های بیان نسبی ژن‌های نوروکینین B توسط آنالیز (t-test) به وسیله نرم افزار SPSS تعیین و نمودارهای مربوطه از طریق نرم افزار Excel رسم گردیدند.

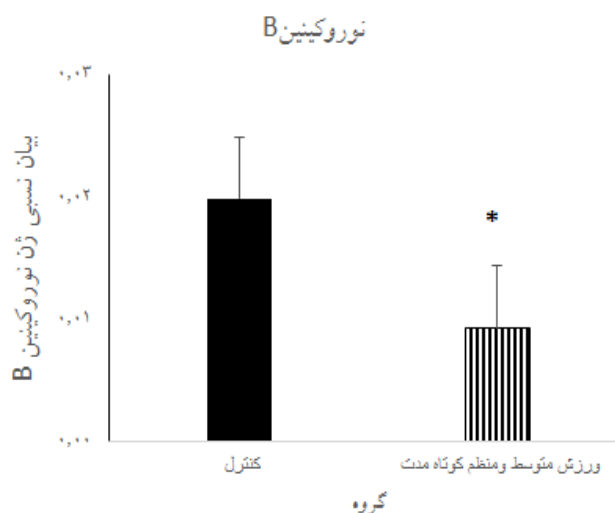
RNA کل بافت‌های هیپوتالاموسی توسط کیت استخراج RNA Trizol استخراج شدند. غلظت RNA با خواندن میزان جذب RNA در  $260\text{nm}$  تعیین شد. RNA با استفاده از کیت رونویسی معکوس (BIONEER) به cDNA تبدیل شد. از آنجا که گلیسر آلدئید ۳ فسفو دهیدروژناز (GAPDH) به طور پیوسته در بافت‌های مختلف از جمله مغز سنتز می‌شود تعیین سطح mRNA ی آن توسط روش Real PCR time- برای نرمال کردن نمونه‌های mRNA می ژن نوروکینین B استفاده شد. توالی پرایمر ژن‌های مزبور در جدول

جدول ۱. توالی پرایمرهای ژن‌های مورد مطالعه

ژن	پرایمر رفت	پرایمر برگشت
<i>Gapdh</i>	5'CGGCCAAATCCGTTTACACCGA3'	5'GGCTCTCTGCTCCTCCCTGTTCC3'
<i>Tac2</i>	5'CAAGAGGAACAGCCAACCAG3'	5'AAGGGAGCCAACAGGAGGAC3'

### یافته‌ها

میانگین بیان نسبی ژن نوروکینین B در گروه ورزش متوسط و منظم یک ماهه نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری داشت ( $p < 0.05$ ) (نمودار ۱).



نمودار ۱. بیان نسبی ژن نوروکینین B در گروه کنترل و گروه تیمار با ورزش متوسط و منظم یک ماهه. \* اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه کنترل را نشان می‌دهد ( $P < 0.05$ ). داده‌ها به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار گزارش شده‌اند.

میانگین سطح سرمی هورمون کورتیکواسترون پس از ورزش متوسط و منظم یک ماهه کاهش معنی داری نسبت به گروه کنترل نشان داد ( $p < 0.05$ ) (جدول ۲). در ضمن میانگین میزان هورمون لوتهن کنده (LH) پس از اتمام دوره آزمایش در

گروه تیمار با ورزش افزایش معنی داری داشت ( $p < 0.05$ ) (جدول ۲). ورزش متوسط و منظم موجب افزایش معنی دار در میانگین سطح سرمی هورمون تستوسترون در گروه ورزش نسبت به گروه کنترل شد ( $p < 0.05$ ) (جدول ۲).

جدول ۲. سطح سرمی هورمون کورتیکواسترون، هورمون لوتهن کنده و تستوسترون در گروه‌های مورد مطالعه. \* اختلاف معنی دار نسبت به گروه کنترل را نشان می‌دهد ( $p < 0.05$ ). داده‌ها به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار گزارش شده‌اند.

مقدار p	مقدار t درون گروهی	میانگین $\pm$ انحراف معیار	گروه‌ها	شاخص
۰/۰۳۱	-۲/۳	۲/۹ $\pm$ ۰/۶۸	گروه کنترل	سطح سرمی هورمون کورتیکواسترون (نانوگرم / میلی لیتر)
*		۱/۸ $\pm$ ۰/۷۱	گروه ورزش متوسط و منظم یک ماهه	
۰/۰۴	-۱/۷	۱۲/۲۲ $\pm$ ۱/۳	گروه کنترل	سطح سرمی هورمون لوتهن کنده (میکرو واحد بین المللی / میلی لیتر)
*		۱۴/۵۴ $\pm$ ۲/۹	گروه ورزش متوسط و منظم یک ماهه	
۰/۰۳۱	-۱/۹	۱/۸ $\pm$ ۰/۴۷	گروه کنترل	سطح سرمی هورمون تستوسترون (نانوگرم در میلی لیتر)
*		۲/۸ $\pm$ ۰/۷۰	گروه ورزش متوسط و منظم یک ماهه	

## بحث

شده از این نورون‌ها نیز بر روی نورون‌های GnRH وجود دارند. مطالعات پیشین اثرات متناقض نوروکینین B بر نورون‌های GnRH و در پی آن ترشح LH در جوندگان را گزارش کردند، با این وجود اکثر بررسی‌های صورت گرفته، حاکی از آن بودند که NKB بر ترشح LH در جوندگان نقش مهمی دارد، چراکه ترزریق آگونیست این نوروپپتید به عنوان مهارکننده ترشح LH در موش صحرائی و سوری عمل می‌نماید (۶، ۷). نتایج بررسی حاضر نیز تائید کننده اثرات مهارتی NKB بر ترشح LH در جوندگان بود، چنانچه در گروه ورزش

در پژوهش حاضر سعی بر بررسی اثرات ورزش بر محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-گناد در جنس مذکر بود. در این رابطه تغییرات بیان mRNA، ژن نوروکینین B در هسته قوسی هیپوتالاموس بررسی شد. چنانچه در نمودار ۱ نشان داده شده است، مقادیر بیان ژن نوروکینین B (Tac2) در گروه تیمار با ورزش نسبت به گروه کنترل کاهش معنی داری داشت. زواید نورونی، نورون‌های نوروکینین B به منطقه پیش‌بینایی هیپوتالاموس و برجستگی میانی وارد شده و با نورون‌های GnRH ارتباط برقرار می‌کنند، گیرنده‌های نوروپپتیدها آزاد

(B) موجبات افزایش سطوح هورمون‌های LH و تستوسترون را سبب شده است. این نتایج (افزایش سطح هورمون LH و تستوسترون) با یافته‌های بسیاری از محققین که اثرات مفید ورزش متوسط بر محور هیپوفیز گناد را نشان داده بودند هم راستا بود (۱۶، ۱۷). به عنوان مثال اکثر مطالعات صورت گرفته از افزایش سطوح هورمون تستوسترون و بهبود عملکرد تولیدمثلی افراد ورزش کرده خبر می‌دهند که مطالعه حاضر نیز در استایی تائید مطالعات پیشین است.

### نتیجه‌گیری

فعالیت بدنی متوسط و منظم یک ماهه با کاهش سطح هورمون کورتیکواسترون موجبات کاهش بیان ژن نوروکینین B را فراهم کرده که نتیجه آن احتمالاً "افزایش سطوح هورمون‌های لوتهینه کننده و تستوسترون و در نهایت بهبود عملکرد تولید مثلی در جنس مذکر می‌باشد.

### تشکر و قدردانی

مقاله حاضر برگرفته از پایان نامه دکتری گروه علوم جانوری دانشکده علوم و فناوری زیستی دانشگاه شهید بهشتی می‌باشد.

### منابع

1. Navarro VM, Gottsch ML, Wu M, García-Galiano D, Hobbs SJ, Bosch MA, et al. Regulation of NKB pathways and their roles in the control of Kiss1 neurons in the arcuate nucleus of the male mouse. *Endocrinology*. 2011;152(11):4265–75.
2. Merkley CM. The role of kisspeptin and KNDy Cells in the reproductive neurendocrine system. [Ph.D thesis]. University of Western Ontario, 2013.
3. Young J, Bouligand J, Francou B, Raffin-Sanson ML, Gailliez S, Jeanpierre M, et al. TAC3 and TACR3 defects cause hypothalamic congenital hypogonadotropic hypogonadism in humans. *J Clin Endocrinol*

متوسط و منظم یک ماهه به دنبال کاهش بیان ژن NKB، افزایش مقادیر LH مشاهده شد. بررسی‌ها نشان دادند که ورزش محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-آدرنال را متاثر می‌سازد و همچنین توانایی تولید مثلی نیز تحت تاثیر تغییرات هورمون‌های استرسی قرار می‌گیرد، از این رو در این بررسی سطح هورمون گلیکوکورتیکوئیدی در سرم نیز اندازه‌گیری شد. سطح سرمی کورتیکواسترون در پاسخ به ورزش متوسط و منظم یک ماهه نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری داشت (جدول ۲). اکثر مطالعات صورت گرفته اثرات مفید و موثر ورزش متوسط و منظم، بر کاهش استرس را گزارش نمودند (۲۲). یافته‌های بررسی حاضر نیز در راستای یافته‌های پیشین است و تائیدکننده اثرات مفید ورزش بر کاهش استرس می‌باشد. به علاوه از آنجایی که گیرنده گلیکوکورتیکوئیدها در نورون‌های GnRH یافت شده و نقش مهمی آن بر بیان این ژن به اثبات رسیده است (۱۲) بنابراین شاید بتوان عنوان نمود که ورزش متوسط و منظم یک ماهه می‌تواند با کاهش سطح گلیکوکورتیکوئیدها موجبات افزایش سطح LH و تستوسترون در گروه ورزش را فراهم کرده باشد.

تحقیقات پیشین حاکی از تغییر بیان ژن نوروکینین B در پاسخ به گلیکوکورتیکوئیدها می‌باشد، به طوری که محققین نشان دادند که کاهش استرس با کاهش بیان NKB و در نتیجه بهبود عملکرد تولیدمثلی همراه است (۲۳). در پژوهش حاضر کاهش کورتیکواسترون در گروه ورزش نسبت به گروه کنترل، کاهش بیان ژن NKB را در پی داشت. بنابراین شاید بتوان عنوان نمود که تغییرات گلیکوکورتیکوئیدی می‌تواند، بر بیان ژن NKB اثر گذارد. کاهش بیان ژن نوروکینین B در گروه تیمار با ورزش موجب تقلیل اثرات مهمی این نورپپتید بر نورون‌های GnRH شد و در نهایت افزایش سطح هورمون LH و تستوسترون در گروه ورزش نسبت به گروه کنترل را در پی داشت. بنابراین کاهش سطح کورتیکواسترون در پاسخ به ورزش متوسط و منظم یک ماهه به طور مستقیم (با اثر بر نورون‌های GnRH) یا غیر مستقیم (به واسطه کاهش بیان ژن نوروکینین

- Metab. 2010;95(5):2287-95.
4. Rance NE, Krajewski SJ, Smith MA, Cholanian M, Dacks PA. Neurokinin B and the hypothalamic regulation of reproduction [Internet]. Vol. 1364, Brain Research. 2010.08.059
  5. Grachev P, Millar RP, O'Byrne KT. The role of neurokinin B signalling in reproductive neuroendocrinology. *Neuroendocrinology*. 2014;99(1):7-17.
  6. Chaikhun T, Sothibandhu P, Suadsong S. The role of kisspeptin signaling in reproduction of ruminants. *Thai J Vet Med*. 2013;43(1):7-14.
  7. Navarro V, Gottsch M, Chavkin C, Okamura H, Clifton D, Steiner R. Regulation of gonadotropin-releasing hormone secretion by kisspeptin/dynorphin/neurokinin B neurons in the arcuate nucleus of the mouse. *J Neurosci*. 2009;29(38):11859-66.
  8. Xu J, Kirigiti MA, Grove KL, Smith MS. Regulation of food intake and gonadotropin-releasing hormone/luteinizing hormone during lactation: Role of insulin and leptin. *Endocrinology*. 2009;150(9):4231-40.
  9. Tokarz RR, Summers CH. Stress and Reproduction in Reptiles [Internet]. Vol. 3, Hormones and Reproduction of Vertebrates - Volume 3. Elsevier; 2011. 169-213.
  10. Chand D, Lovejoy DA. Stress and reproduction: Controversies and challenges. *Gen Comp Endocrinol*. 2011;171(3):253-7.
  11. Nargund VH. Effects of psychological stress on male fertility. *Nat Rev Urol* [Internet]. 2015;12(7):373-82.
  12. Whirledge S, Cidlowski JA. Glucocorticoids, stress, and fertility. Vol. 35, *Minerva Endocrinologica*. 2010. 109-25.
  13. Misra M. Neuroendocrine mechanisms in athletes [Internet]. 1st ed. Vol. 124, *Handbook of Clinical Neurology*. Elsevier B.V.; 2014. 373-386.
  14. Grandys M, Majerczak J, Zapart-Bukowska J, Kulpa J, Zoladz JA. Gonadal hormone status in highly trained sprinters and in untrained men. *The Journal of Strength & Conditioning Research*. 2011 Apr 1;25(4):1079-84.
  15. Manna I, Jana K, Samanta PK. Effect of intensive exercise-induced testicular gametogenic and steroidogenic disorders in mature male Wistar strain rats: A correlative approach to oxidative stress. *Acta Physiol Scand*. 2003;178(1):33-40.
  16. Grandys M, Majerczak J, Duda K, Zapart-Bukowska J, Kulpa J, Zoladz JA. Endurance training of moderate intensity increases testosterone concentration in young, healthy men. *Int J Sports Med*. 2009;
  17. Di Luigi L, Romanelli F, Sgrò P, Lenzi A. Andrological aspects of physical exercise and sport medicine. *Endocrine*. 2012;42(2):278-84.
  18. Hill EE, Zack E, Battaglini C, Viru M, Viru A, Hackney AC. Exercise and circulating cortisol levels. *J Endocrinol Invest* [Internet]. 2008;31(7):587-91.
  19. Hesari FS, Khajehnasiri N, Khojasteh SMB, Soufi, FG, Dastranj A. Attenuation of Phosphorylated Connexin-43 Protein Levels in Diabetic Rat Heart by Regular Moderate Exercise. 2014;17(8):2014.
  20. Salehi MS. A simple method for isolation of the anteroventral periventricular and arcuate nuclei of the rat hypothalamus. *Anat (International J Exp Clin Anatomy)*. 2013;6-7:48-51.
  21. Schmittgen TD, Livak KJ. Analyzing real-time PCR data by the comparative CT method. *Nature protocols*. 2008 1;(6): 1101-1108.
  22. Sandlund E, Norlander T. The effects of Tai Chi Chuan relaxation and exercise on stress responses and well-being: An overview of research. *Int J Stress Manag*. 2000;7(2):139-49.
  23. Billings HJ. Neurokinin B: A new player in immune/inflammatory stress-mediated suppression of reproduction. *Endocrinology*. 2014;155(7):2346-8.