

Neuroendocrine Role of Kisspeptin-Neurokinin B-Dynorphin Pathway in Male Fertility and its Correlation with Melatonin

Najmeh Davoodian¹, Reza Khetvan-Hafshejani², Ali Kadivar², Sayed Mostafa Modarres Mousavi^{3,4}, Ehsan Aali⁵, Amir Gheami⁶, Behnam Bakhtiari Moghaddam⁷, Sadegh Shirian^{7,8*}

¹Research Institute of Animal Embryo Technology, Shahrekord University, Shahrekord, Iran

²Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord University, Shahrekord, Iran

³Department of Nanobiotechnology, Faculty of Biological Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

⁴Shefa Neuroscience Research Center, Khatam Alanbia Hospital, Tehran, Iran

⁵Department of Pharmacology, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran

⁶Department of Virology, Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran

⁷Department of Pathology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord University, Shahrekord, Iran

⁸Shiraz Molecular Pathology Research Center, Dr Daneshbod Lab, Shiraz, Iran

Article Info:

Received: 11 Mar 2019

Revised: 6 Apr 2019

Accepted: 23 Apr 2019

ABSTRACT

Introduction: A subset of neurons has been recently identified in the arcuate nucleus of the hypothalamus that co-localize three neuropeptides; kisspeptin, neurokinin B, and dynorphin (KNDy). These neuropeptides have been shown to play a critical role in the central control of reproduction and the modulation of gonadotrophin releasing hormone (GnRH) secretion by endocrine, metabolic and environmental inputs. KNDy also acts as a novel potential therapeutic target in the treatment of fertility disorders. Infertility following chemotherapy is particularly common in male survivors of childhood cancer and for testicular cancer survivors. Early human studies have suggested that peripheral exogenous Kisspeptin administration stimulates GnRH secretion in healthy adults and in patients with some forms of infertility. In this review, we describe our current understanding of the neural systems mediating the actions of KNDy neurons on GnRH pulse generation and male fertility. In addition, the effect of melatonin treatment on the GnRH neuronal system and its effect on kisspeptin and gonadotropin-inhibitory neurons are discussed. **Conclusion:** Further researches about functional and molecular mechanisms of KNDy pathway, endogenous opioid peptide, and antioxidant agents, such as melatonin, may develop novel approaches to treat chemotherapy induced-infertility in males.

Key words:

1. Neuroendocrinology
2. Fertility
3. Melatonin
4. Male
5. Gonadotropins

*Corresponding Author: Sadegh Shirian

E-mail: shirian85@gmail.com

نقش مسیر نورواندکرین کیسپیتین -نوروکینین B- دی نوروفین در باروری مردان و ارتباط آن با ملاتونین

نجمه داویدیان^۱، رضا ختوان هفشوگانی^۲، علی کدیور^۳، سید مصطفی مدرس موسوی^۴، احسان عالی^۵، امیر قائمی^۶، بهنام بختیاری مقدم^۷، صادق شیریان^{۸*}

^۱ مرکز تحقیقات تکنولوژی جنین دام، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران
^۲ گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران
^۳ گروه نانوبیوتکنولوژی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
^۴ مرکز تحقیقات علوم اعصاب شفا، بیمارستان خاتم الانبیا، تهران، ایران
^۵ گروه فارماکولوژی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران
^۶ گروه ویروس شناسی، انسستیتو پاستور ایران، تهران، ایران
^۷ گروه پاتولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران
^۸ مرکز تحقیقات مولکولار پاتولوژی شیراز، آزمایشگاه دکتر داشنبید، شیراز، ایران

اطلاعات مقاله:

تاریخ پذیرش: ۳ اردیبهشت ۱۳۹۸

اصلاحیه: ۱۷ فروردین ۱۳۹۸

تاریخ دریافت: ۲۰ اسفند ۱۳۹۷

چکیده

مقدمه: اخیراً زیرمجموعه‌ای از نورون‌ها در هسته‌های arcuate هیپوталاموس شناسایی شده‌اند که سه نوروپیتید کیسپیتین، نوروکینین B و دی نوروفین (KNDy) را به هم متصل می‌کند. نشان داده شده است که این نوروپیتیدها نقش حیاتی در کنترل مرکزی تولیدمثل و تنظیم ترشح هورمون آزادکننده گنادوتروپین از طریق اندوکرین، متابولیک و محیطی ایفاء می‌کنند. KNDy همچنین به عنوان یک هدف درمانی جدید در درمان اختلالات ناباروری عمل می‌کند. ناباروری متعاقب شیمی درمانی، بهویژه در مردان مبتلا به سلطان در دوران کودکی و در مردان مبتلا به سلطان بیضه رایج می‌باشد. مطالعات انسانی اخیر اثبات کرده‌اند که تجویز محیطی و بروز زاد کیسپیتین ترشح GnRH در مردان سالم و برخی بیماران مبتلا به ناباروری را تحریک می‌کند. در این مطالعه مروری، اطلاعات اخیر سیستم نورونی واسطه‌گر عملکردهای نورون‌های KNDy در ترشح GnRH و باروری مردان را بحث می‌کنیم. به علاوه اثر درمان ملاتونین بر روی سیستم نورونی GnRH و اثر مهاری آن بر کیسپیتین و نورون‌های مهاری گنادوتروپین بحث می‌شود. **نتیجه‌گیری:** پژوهش‌های بیشتر در خصوص مکانیسم‌های عملکردی و مولکولی مسیر KNDy نوروفیتیدهای مخدوش زاد و عوامل آنتی اکسیدان‌هایی مانند ملاتونین ممکن است رویکردی نو برای درمان ناباروری القاء شده توسعه شیمی درمانی در مردان را توسعه دهد.

کلید واژه‌ها:

۱. نوروفیتید کاینولوژی
۲. باروری
۳. ملاتونین
۴. نر
۵. گنادوتروپین

* نویسنده مسئول: صادق شیریان

آدرس الکترونیکی: shirian85@gmail.com

شناخت

آزادسازی Kisspeptin از نورون‌های KNDy باعث مهار ترشح GnRH و به دنبال آن مهار ترشح LH می‌شود. این یافته توسط پژوهش‌های متعددی که با تزریق برونزاد پروستاگلاندین E2، کاهش تعداد نورون‌های بیان‌کننده Kiss1 در هستهٔ arcuate هیپوталاموس را گزارش کرده‌اند تأیید می‌شود (۲۰-۲۱). در انسان نیز در دوران پس از یائسگی با کاهش هورمون‌های استروئیدی، افزایش تعداد نورون‌های بیان‌کننده Kiss1 در هستهٔ arcuate هیپوталاموس را شاهد هستیم (۲۱).

کنترل نوروهورمونی تولیدمثل مشکل از شبکهٔ متابوپی از سیگنال‌های مرکزی و محیطی محور هیپوталاموس-هیپوفیز-گنادی است (۲۲). اخیراً نقش neurokinin و dynorphin در تنظیم سیگنال‌های تولیدکننده هورمون آزادکننده گونادوتropین‌ها (GnRH) ثابت شده است. کشف مسیر کیسپتین-نوروکینین بتای نورفین در ک تنظیم ترشح GnRH توسط فاکتورهای اندرکرین، متابولیک و محیطی را تقویت بخشیده است (۲۳). به نظر می‌رسد نورون‌های تولیدکننده Kisspeptin پل بین مقادیر هورمون‌های استروئیدی و مکانیسم‌هایی هستند که ترشح گنادوتropین‌ها را کنترل می‌کنند و اخیراً به عنوان یکی از مهم‌ترین عوامل تنظیم‌کننده محور تولیدمثلی در پستانداران شناخته شده است.

یکی دیگر از ترکیباتی که برای درمان ناباروری ناشی از داروهای شیمی درمانی مورد توجه قرار گرفته‌اند ترکیبات آنتی اکسیدان هستند. در حقیقت زمانی که تولید رادیکال‌های واکنش پذیر اکسیژن (ROS)^۴ در بیضه از قابلیت بافری آنتی اکسیدانت‌های آن بیشتر شود استرس اکسیداتیو در بیضه شروع می‌شود که نتیجهٔ آن اختلال در بلوغ، ظرفیت‌یابی اسپرم و واکنش بین اسپرم و تخمک و متعاقباً کاهش قابلیت باروری در جنس نر می‌شود (۲۴). ملاتونین یکی از کاندیدهای مورد توجه برای این منظور می‌باشد چرا که سطح ملاتونین در پلاسما و وزیکول سمنینال مردان نابارور به میزان قابل توجهی کمتر از مردان سالم و بارور است (۲۵). ملاتونین به عنوان جزء ترشحی اصلی غده pineal قادر به عبور از سد خونی-بیضه‌ایی و تأثیر مستقیم بر سلول‌های بیضه می‌باشد. علاوه بر این، ملاتونین با تنظیم ترشح هورمون‌های محور هیپوталاموس-هیپوفیز بیضه اثر خود را بر محرك‌های GnRH از جمله Kisspeptin اعمال می‌کند (۲۶). بنابراین به نظر می‌رسد در جنس نر ملاتونین پتانسیل جلوگیری یا کاهش ناباروری القا شده در اثر استفاده از داروهای شیمی درمانی را داشته باشد. در این مقاله نقش نوروپیپتیدها به خصوص Kisspeptin در تنظیم عملکرد تولیدمثلی در باروری مردان و نیز

مقدمه

پیشرفت‌های علم سرطان‌شناسی در زمینهٔ تشخیص و درمان سرطان باعث افزایش چشمگیر احتمال زنده ماندن افراد جوان مبتلا به سرطان‌های بدخیم شده است. ۵ درصد سرطان‌ها در افراد زیر ۳۵ سال دیده می‌شوند. امروزه، ۸۵ درصد تومورها در کودکان و مردان جوان درمان می‌شوند (۱، ۲). هر چند شیمی درمانی طولانی‌مدت می‌تواند منجر به ناباروری شود. قابلیت باروری یکی از جوانب مهم زندگی انسان است، این قابلیت نیاز به عملکرد منظم و کافی اندام‌های تناسی دارد. داروهای شیمی درمانی کم و بیش این عملکرد را تحت تأثیر قرار می‌دهند (۳). بین ۲۰ تا ۲۵ درصد از مردان جوان مبتلا به سرطان بیضه از مشکلات باروری رنج می‌برند (۴). مداخلات جراحی و دارویی جدید معمولاً از آسیب به اعصاب تناسی جلوگیری می‌کنند اما حفظ تعادل هورمونی به منظور ادامه باروری بسیار دشوارتر می‌باشد. رایج‌ترین داروی شیمی درمانی مورد استفاده برای موارد سرطان بیضه Cisplatin است. سایر داروهای مورد تأیید شامل etoposide، vinblastine، ifosfamide، bleomycin و busulfan هستند (۵). تقریباً همه بیماران دریافت‌کننده Cisplatin و busulfan صورت موقت یا دائمی آزواسپرمی^۱ را نشان می‌دهند (۶). کاهش غلظت اسپرم و کاهش حجم بیضه‌های باقی مانده در افراد در معرض شیمی درمانی لزوم توسعه روش‌های درمانی جدید به منظور کاهش ناباروری در بیماران سرطانی دریافت‌کننده داروهای شیمی درمانی را نشان می‌دهد.

سلول‌های KNDy کاندیدی نو برای درمان ناباروری جنس نر

اخیراً، یک زیر مجموعه از نورون‌ها در هستهٔ arcuate هیپوталاموس شناسایی شده است که ۳ نوروپیپتید (DYN^۲) و neurokinin B، Kisspeptin^۳ این نورون‌ها که به صورت مخفف، سلول‌های KNDy^۴ نامیده می‌شوند، در طیف وسیعی از گونه‌های جانوری از جوندگان گرفته تا انسان وجود دارند و نقشی کلیدی در تنظیم عملکرد نورون‌های GnRH ایفاء می‌کنند (۷-۹). سلول‌های KNDy یکی از مهم‌ترین اهداف هورمون‌های استروئیدی هستند. این سلول‌ها دارای انشعابات مستقیمی در اجسام سلولی و انتهاهای عصبی ترشحی نورون‌های GnRH می‌باشند و از این طریق باعث اعمال اثرات فیدبکی هورمون‌های استروئیدی بر سلول‌های GnRH می‌شوند (۱۰-۱۵). سلول‌های KNDy به عنوان واسطه اثرات مهاری پروستاگلاندین E2 بر دامنه^۵ و اثرات مهاری progesterone بر فرکانس^۶ امواج ترشحی LH و FSH عمل می‌کنند (۱۶). در واقع پروستاگلاندین E2 با مهار

¹ Azoospermia

² Dynorphin

³ Kisspeptin /neurokinin B/dynorphin

⁴ Amplitude

⁵ Frequency

⁶ Reactive oxygen species

نشان می‌دهد (۴۰). این گیرنده عضوی از خانواده rhodopsin G است و از نظر ساختاری شبیه به گیرنده‌های گالانین (درصد مشابهت ۴۵ درصد) می‌باشد (۳۰-۳۲). با اتصال Kisspeptin به گیرنده، آنزیم فسفولیپاز C فعال می‌شود که به دنبال آن پیامبرهای ثانویه داخل سلولی اینوزیتول تری-فسفات و دی آسیل گلیسرول نیز فعال می‌شوند و باعث آزادسازی کلسیم از شبکه آندوپلاسمی و میتوکندری سلول و فعال شدن پروتئین کیناز C می‌شوند (۴۱، ۴۲)، با ورود یون کلسیم به سیتوپلاسم سلول‌های Leydig تبدیل کلسترول به pregnenolone که مرحله محدودکننده سنتز تستوسترون است رخ می‌دهد (۳۸).

توزیع آناتومیک Kisspeptin در بدن

جفت اولین محلی بود که بیان Kisspeptin به میزان زیادی در آن مشاهده شد (۳۲، ۴۱) و پس از آن بیان Kisspeptin در بیشه، تخمدان، پانکراس و روده کوچک نیز مشاهده شد (۳۲، ۴۳). در موش بیان مرکزی Kisspeptin و گیرنده‌های آن در دو جمعیت نورونی اصلی در هیپوپلاموس دیده می‌شود: هسته arcuate (ARC) و هسته اطرافی-شکمی قدامی -شکمی (AVPV) (۴۴). در انسان و سایر نخستی‌ها، بیان mRNA mRNAB به Kisspeptin به صورت اولیه در هسته قیفی که معادل ARC جوندگان است دیده می‌شود (۲۱).

KISSPEPTIN با تحریک ترشح GnRH محور تولیدمثلی را فعال می‌کند

در هیپوپلاموس طیف وسیعی از گونه‌های جانوری، نورون‌های KISSPEPTIN در ارتباط نزدیک با نورون‌های GnRH عمل می‌کنند (۱۲، ۴۵) به طوری که گیرنده‌های KISSPEPTIN در نورون‌های GnRH بیان می‌شوند (۴۶، ۴۷). KISSPEPTIN با تحریک نورون‌های GnRH باعث آزادسازی GnRH به محور هیپوپلاموس-هیپوفیز می‌شود که نتیجه آن آزادسازی گونادوتropین‌ها (LH و FSH) از هیپوفیز قدامی است (۳۳-۳۵، ۴۸). علاوه بر این، تزریق مرکزی و محیطی KISSPEPTIN باعث افزایش هورمون لوثرینه کننده (LH) در انسان و حیوانات می‌شود (۴۴، ۴۹-۵۱). در جنس نر، LH با تحریک سلول‌های Leydig باعث افزایش سنتز هورمون‌های استروئیدی از جمله تستوسترون می‌شود. تحریک سلول‌های Leydig باعث تکامل مجاري Wolffian و توسعه قسمت‌های مختلف دستگاه تناسلی نر (اپیدیدیم، دفران، آمپول، وزیکول سمینال و پروستات) نیز می‌شود (۳۸). بنابراین با توجه به نقش تستوسترون در تولید و بلوغ سلول‌های spermatogonia سرعت تقسیم سلول‌های Leydig باعث تکامل مجاري mesonephric و سلول‌های Leydig توسعه قسمت‌های مختلف دستگاه تناسلی نر (اپیدیدیم، دفران، آمپول، وزیکول سمینال و پروستات) نیز می‌شود (۳۸). بنابراین با توجه به نقش تستوسترون در تولید ضمیمه‌ای به نظر می‌رسد Kisspeptin پتانسیل استفاده به عنوان یک ترکیب ضد ناباروری در بیماران در معرض تناسلی نر نیز می‌شود (۳۸). مطالعات فارماکولوژیک در موش مشخص کرده است که FSH باعث افزایش تکثیر سلول‌های Sertoli پیش از بلوغ می‌شود و از آنجایی که تعداد سلول‌های Sertoli تعیین کننده تعداد سلول‌های زایا در بیشه است، FSH نقش حیاتی در اسپرماتوزن^۷ پس از بلوغ ایفاء می‌کند (۳۸). بنابراین، با توجه به

^۷ Spermatogenesis

ارتباط آن با عملکرد ملاتونین که جزء ترشحی اصلی غده pineal و دارای خواص آنتی اکسیدانت در بیشه است را بحث کرده‌ایم. در انتهای همچنین به بررسی نقش نوروپیتیدهای مخدري درون‌زاد در باروری جنس نر پرداخته شده است. در خصوص نوروپیتیدهای مخدري درون‌زاد یافته‌های متناقضی در دست می‌باشد به طوری که برخی مطالعات تجویز آگونیست‌های آن‌ها را عامل افزایش حرکات اسپرم دانسته‌اند و برخی دیگر تجویز آنتاگونیست‌های آن‌ها را عامل محرک اسپرم معرفی کرده‌اند (۲۷، ۲۸) که نشان دهنده ضرورت انجام مطالعات بیشتر در این زمینه می‌باشد.

اوین بار در سال ۱۹۶۶ به عنوان مهارکننده Kisspeptin متاستاز ملانومای بدخیم شناسایی شد (۲۹). این پیتیدها در واقع گروهی از پیتیدهای هیپوتalamوسی هستند که توسط ژن ۱ KISS1/kiss ۱ کد می‌شوند. این پیتیدها دارای ساختار مشابهی هستند و از تمایز یک نوع سلول پیش‌ساز مشترک به نام prepro-Kisspeptin ایجاد می‌شوند. پیتیدهای Kisspeptin در خانواده پیتیدهای آمیدی RF (دارای اسیدآمینه آرژینین در انتهای کربوکسیل و اسیدآمینه فنیل آلانین در انتهای آمیدی می‌باشند) قرار می‌گیرند. این خانواده آمیدی شامل پیتیدهای فعال‌کننده نورون‌های عصبی هستند و عمدها از آرژینین، فنیل آلانین و NH2 ساخته شده‌اند (۳۰). فراوان‌ترین Kisspeptin موجود در خون انسان ۵۴- است که به ۳ نوع ۱۳، ۱۴ و ۱۰ اسیدآمینه‌ای تقسیم می‌شود (۳۱).

Kisspeptin در حقیقت شامل خانواده‌ایی از پیتیدهای فعال کننده نورون‌های عصبی هستند که در بافت‌های مختلفی از جمله مغز و بیشه یافت شده‌اند (۳۲). Kisspeptin با تحریک GnRH باعث افزایش LH می‌شود که افزایش سنتز هورمون‌های استروئیدی از جمله تستوسترون در سلول‌های Leydig را به دنبال دارد (۳۳-۳۶). گیرنده‌های LH در سلول‌های Leydig سرعت تقسیم سلول‌های بنيادی spermatogonia را کنترل می‌کنند (۳۷). تحریک LH سلول‌های Leydig باعث تکامل مجاري mesonephric و توسعه قسمت‌های مختلف دستگاه تناسلی نر (اپیدیدیم، دفران، آمپول، وزیکول سمینال و پروستات) نیز می‌شود (۳۸). بنابراین با توجه به نقش تستوسترون در تولید و بلوغ سلول‌های spermatozoa و تکامل غدد جنسی ضمیمه‌ای به نظر می‌رسد Kisspeptin پتانسیل استفاده به عنوان یک ترکیب ضد ناباروری در بیماران در معرض شیمی درمانی را داشته باشد.

گیرنده‌های Kisspeptin

گیرندهٔ Kisspeptin ۴ سال پس از کشف شناسایی و GPR54 نام گرفت (۳۹). توالی اسیدهای آمینه GPR54 در انسان و موش ۸۵ درصد مشابه

شناخت

کاهش محسوسی نشان نمی‌دهد به طوری که غلظت تستوسترون در موش‌های تیمار 18 ± 5 نانوگرم بر میلی‌لیتر و در موش‌های کنترل 2 ± 1 نانوگرم بر میلی‌لیتر گزارش شده است (۶۵). مطالعه دیگری با تجویز آگونیست Kisspeptin (TAK683) حداکثر افزایش هورمون‌های LH و FSH را ۸ ساعت و تستوسترون را $48 - 16$ ساعت پس از تجویز آگونیست گزارش کرده است (۶۶). این مطالعات همگی نشان‌دهنده نقش Kisspeptin در تولید هورمون‌های استروئیدی بیضه هستند.

در موش برخلاف انسان و سایر نخستی‌ها، فعالیت اینمنی Kiss1 در سلول‌های Leydig وجود دارد (۵۸، ۶۱، ۶۷). یک مطالعه با مقایسه کمی سطح رونویسی Kiss1 در بیضه، مغز و سایر بافت‌های بدن موش مشخص کرده است که در موش حداکثر بیان Kisspeptin در بیضه وجود دارد. در این مطالعه ایمونو‌هیستوشیمی، Kisspeptin تنها در سلول‌های Leydig بافت بینایی بیضه موش‌ها شناسایی شده است و در بخش‌های لوله‌ایی سلول‌های Sertoli و سلول‌های زایا هیچ‌گونه فعالیت اینمنی مربوط به Kisspeptin دیده نشده است. میزان Kisspeptin در سلول‌های Leydig موش وابسته به میزان LH می‌باشد به طوری که برداشت بیضه‌ها با افزایش LH و کاهش شدید Kisspeptin در پلاسمما همراه است که می‌تواند نشان‌دهنده منشاء اصلی میزان پلاسمایی Kisspeptin در موش باشد (۵۸). در یک مطالعه، سطح پلاسمایی Kisspeptin در افراد نر نباروار ($n=150$) به صورت معنی‌داری ($P<0.001$) کمتر از افراد نر بارور ($n=26$) گزارش شده است (۶۸). این مطالعات می‌توانند ارتباط بین سطح پلاسمایی LH و Kisspeptin را به خوبی نشان دهند. بنابراین در آینده تجویز LH یا GnRH در جنس نر نباروار و اندازه‌گیری سطح پلاسمایی Kisspeptin می‌تواند قابل توجه باشد.

چندین مطالعه حضور Kisspeptin و گیرنده‌های آن را در سلول‌های Sertoli و طیف وسیعی از سلول‌های زایا شامل spermatocyte و spermatid در گونه‌های جانوری مختلف نشان داده‌اند (۵۹-۶۱). حضور Kisspeptin و گیرنده‌های آن در طیف وسیعی از سلول‌های زایا نشان‌دهنده نقش autocrine paracrine-KISS1 در اسپرما‌توزن^۸ یا باشد. شواهدی مبنی بر نقش Kisspeptin در حرکت و ظرفیت‌یابی اسپرم وجود دارد (۵۹، ۶۱) به طوری که در انسان گیرنده‌های Kisspeptin در قسمت میانی تازک، اطراف گردن و در قسمت سر اسپرم یافت شده است (۶۱). در واقع Kisspeptin با افزایش کلسیم داخل اسپرم باعث افزایش تحرک آن می‌شود. این مطالعات از نقش Kisspeptin در شروع اسپرما‌توزن در پستانداران حمایت می‌کنند هر چند که تنها یک مطالعه وجود گیرنده‌های Kisspeptin در سلول‌های اسپرما‌توزن

نیاز فرایند اسپرما‌توزن به FSH و تستوسترون و توانایی KISSPEPTIN در القای ترشح این دو ماده به نظر می‌رسد که KISSPEPTIN پتانسیل استفاده به عنوان یک ترکیب ضد ناباروری در بیماران در معرض شیمی درمانی را داشته باشد.

KISSPEPTIN نقشی حیاتی در شروع بلوغ ایفاء می‌کند

در سال ۲۰۰۳ De Roux (۵۲) و Seminara (۵۳) چندین مورد جهش در ژن‌های کدکننده گیرنده‌های KISSPEPTIN در افراد مبتلا به فرم مادرزادی هیپوگونادیسم ناشی از کمبود هورمون‌های گونادوتropین (CHH) را گزارش کرده‌اند. علاوه بر این، فنوتیپ CHH در افراد دارای جهش‌های هتروزیگوت در گیرنده‌های KISSPEPTIN نیز مشاهده شده است (۵۴). اخیراً جهش‌های غیرفعال کننده ژن‌های کدکننده گیرنده‌های KISSPEPTIN در افرادی با توقف روند بلوغ نیز ثبت شده است (۵۵).

نورون‌های بیان‌کننده KISSPEPTIN در AVPV موش از روز ۲۵ پس از تولد قابل شناسایی هستند و حداکثر میزان بیان KISSPEPTIN در شروع بلوغ جنسی (روز ۳۱ پس از تولد) دیده می‌شود (۱۲). Navarro با تزریق مرکزی Kisspeptin در موش در روزهای ۲۶-۳۱ پس از تولد و مشاهده باز شدن پیش از موعد واژن، افزایش وزن رحم، افزایش میزان پلاسمایی هورمون‌های LH و KISSPEPTIN اولین شخصی است که نقش estradiol در بیماری‌ای^۸ بلوغ زودرس را گزارش کرده است (۵۶). این مطالعات همگی نشان‌دهنده نقش حیاتی KISSPEPTIN در شروع بلوغ جنسی و باروری فرد هستند چرا که بلوغ جنسی با افزایش تدریجی LH و FSH آزاد شده از هیپوفیز قدامی به داخل جریان خون و اثر آن‌ها بر اندام‌های تناسلی شروع می‌شود.

نقش Kisspeptin در دستگاه تولیدمثلی جنس نر

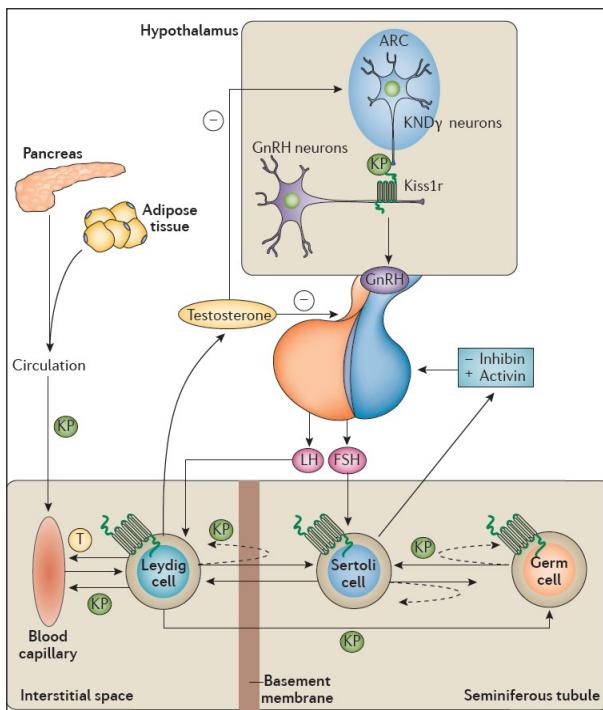
مطالعات زیادی بیان ژن‌های KISS1/kiss1 در دستگاه تولیدمثلی طیف وسیعی از مهره‌داران از جمله انسان و موش را گزارش کرده‌اند (۳۱، ۳۲، ۵۷-۶۱). نقش فیزیولوژیک بخش بینایی بیضه سنتز تستوسترون توسط سلول‌های Leydig در پاسخ به افزایش LH می‌باشد. تجویز برونزاد 10 Kisspeptin به صورت قابل توجهی آزادسازی تستوسترون و LH را افزایش می‌دهد (۶۲-۶۴) و همکاران با تجویز پیوسته Kisspeptin افزایش سطح LH را مشاهده کرده‌اند. در این مطالعه حداکثر غلظت LH (13 نانوگرم بر میلی‌لیتر) ۲ ساعت پس از دریافت Kisspeptin ایجاد شده است. هر چند که مقدار LH با گذشت ۲۴ ساعت از تجویز Kisspeptin به شدت کاهش یافته است. برخلاف Kisspeptin تستوسترون با گذشت ۲۴ ساعت از تجویز Kisspeptin

^۸ Pathogenicity

این بافت‌ها نیز بر جای می‌گذارد. توجه به این نکته ضروری است که این اثر مختص به Kisspeptin نیست به طوری که تجویز مزمون GnRH و یا تجویز حاد با دوز بالا (human chorionic gonadotropin) hCG نیز با تحلیل بافت بیضه در موش همراه هستند (۷۶-۸۱). پیش درمانی با آنتاگونوستهای گیرنده‌های GnRH با کاهش آثار منفی القاء شده در اثر تجویز مزمون Kisspeptin در موش‌های نابلغ و بالغ همراه است که نشان می‌دهد تجویز مزمون Kisspeptin علاوه بر افزایش سرعت محور Kiss1r-GnRH می‌تواند به صورت مستقیم نیز بر بافت بیضه مؤثر باشد. این مطالعات همگی نشان‌دهنده احتمال رخداد ناباروری در تجویز مزمون Kisspeptin و آگونوستهای آن هستند بنابراین پژوهش‌های بیشتری برای تعیین دوز و مدت تجویز آن‌ها مورد نیاز می‌باشد.

NKB

^۹ یک پپتید ۱۰ اسید آمینه‌ای از خانواده تاکی کینین است. سه گیرنده تاکی کینین NK1، NK2 و NK3 شناخته شده است که به واسطهٔ فعال شدن TAC3R در انسان توسط ژن NK3R و در خزندگان توسط ژن TAC2 کد می‌شود. گیرنده



تصویر ۱- نقش Kisspeptin در بیضه. Kisspeptin در سلول‌های Leydig و Sertoli در سطح پلاسمایی KISS1R می‌نشود. این موضعی می‌تواند آثار و سلول‌های زایای بیضه بیان می‌شوند. این Kisspeptin معمولاً می‌تواند آثار paracrine یا autocrine یا هپیوتالاموس و تعدادی از اندامهای محیطی نظیر بافت چربی و پانکراس تولید می‌شود که می‌تواند از طریق جریان عمومی خون به انداه‌های تنسیلی بررسنند. آزاد شده از هپیوتالاموس به صورت غیرمستقیم با تحریک نورون‌های GnRH عملکرد بیضه را تنظیم می‌کند به این شکل که GnRH باعث آزادسازی LH و FSH از هیپوفیز قسمی می‌شود. LH و FSH به ترتیب بر سلول‌های Sertoli و آنرا می‌گذارند: FSH: هورمون محرك فولیکولی؛ GnRH: هورمون آزادکننده گونادوتropین‌ها؛ نورون‌های KNDy: نورون‌های حاوی Kisspeptin، neurokinin B و dynorphin؛ LH: هورمون لوتئینه کننده؛ T: تستوسترون. متوسط Fazal (۸۲-۱۵).

^۹ Neurokinin B

پستانداران را نشان داده است؛ بنابراین، مطالعات بیشتری به منظور درک نقش Kisspeptin در شروع اسپرماتوژن در پستانداران مورد نیاز می‌باشد.

Kisspeptin های درمانی

هر چند که عمدتاً Kisspeptin به صورت مرکزی تولیدمثil در جنس نر را تنظیم می‌کند اما تزریق محیطی آن نیز باعث افزایش GnRH در حیوانات (۴۹، ۶۹) و انسان (۷۱، ۷۰، ۵۰) می‌شود بدون اینکه عوارض جانبی داشته باشد. Dhillon در سال ۲۰۰۵ افزایش سطح پلاسمایی LH و تستوسترون به دنبال افزایش Kisspeptin در مردان Kisspeptin را گزارش کرده است (۵۰). Chan و همکاران با تجویز محیطی ۱۰-۱۱ Kisspeptin افزایش فوری LH بدون تأثیرپذیری از موج درون‌زاد قبلی LH را مشاهده کرده‌اند. آن‌ها گزارش کرده‌اند که میانگین دامنه امواج LH شده با Kisspeptin بیشتر از امواج درون‌زاد LH است (۷۰). Young و همکاران گزارش کرده‌اند که افزایش Kisspeptin باعث برگشت امواج LH در بیماران مبتلا به نقص در سیگنال‌های neurokinin B می‌شود (۷۲). این مطالعات احتمال دستکاری سیگنال‌های Kisspeptin با GnRH هدف درمان اختلالات تولیدمثil ناشی از کاهش نظریه HH و نیز درمان سرطان‌های حساس به هورمون را فراهم کرده‌اند.

Kisspeptin در مدت طولانی باعث تحلیل بیضه‌ها می‌شود

در موش برخلاف آثار مثبت فیزیولوژیک تجویز مزمون یا حاد (دوز بالا) آن آثار منفی زیادی بر عملکرد بیضه پیش از بلوغ و نیز پس از بلوغ دارد. تیمار مزمون با ۱۰ Kisspeptin ۵۴ و ۱۰ Kisspeptin ۵۴ همراه اسپرماتوژن و از بین رفتن بافت بیضه می‌شود. علاوه بر این با تجویز مزمون Kisspeptin سطح پلاسمایی هورمون‌های LH و تستوسترون و تعداد سلول‌های زایا در بافت بینابینی بیضه به صورت معنی‌داری کاهش می‌یابند اما به صورت شکفتانگیزی سطح پلاسمایی هورمون FSH دستخوش تغییر نمی‌شود (۷۳، ۷۴). در حقیقت ۱ روز پس از تجویز مزمون Kisspeptin افزایش هورمون‌های LH و تستوسترون دیده می‌شود اما از روز دوم به بعد با کاهش معنی‌دار این دو هورمون مواجه می‌شویم (۴۰)؛ بنابراین، تجویز مداوم Kisspeptin نهاده مهاری بر محور تولیدمثil در جنس نر دارد. علاوه بر این، تجویز مزمون Kisspeptin در موش دارای آثار منفی بر غده پروستات و وزیکول سمینال می‌باشد به طوری که تجویز مداوم Kisspeptin ۱۰ با کاهش سطح فروکتوز در وزیکول سمینال موش همراه است (۷۵). این یافته‌ها نشان می‌دهند که تجویز مزمون Kisspeptin در پیش از بلوغ نه تنها باعث فعالسازی زودهنگام بیضه‌ها و غدد وزیکول سمینال نمی‌شود بلکه آثار منفی بر

شناخت

پس از اتصال به KOR آزادسازی گنادوتروپین را مهار می‌کند. هر چند که KOR برخلاف NK3R به میزانی بسیار کمی در نورون‌های KNDy بیان می‌شود (۹۰).
نوروپپتیدهای مخدری نیز قادر به تنظیم فعالیت بیضه‌ها هستند

چندین مطالعه وجود نوروپپتیدهای مخدری درون‌زاد و هر ۳ نوع گیرنده آن‌ها (DOR، MOR و KOR) در سلول‌های مختلف بیضه در موش و غشاء اسپرم در انسان را نشان داده‌اند (۹۱-۹۴). علاوه بر این، ژن‌های کدکننده ترکیبات پیش‌ساز مخدری شامل (POMC)،^{۱۴} (PENK)،^{۱۵} (PDYN) در بیضه موش و انسان بیان می‌شود که نشان‌دهنده نقش سیستم اپیوئیدی در تنظیم عملکرد بیضه‌ها می‌باشد (۹۵، ۹۶). هر چند که در حال حاضر نقش سیستم اپیوئیدی در تولیدمثل و باروری در جنس نر به میزان اندکی مورد مطالعه قرار گرفته است. پژوهش‌های انجام شده با استفاده از آگونیست‌ها و آنتاگونیست‌های گیرنده‌های اپیوئیدی نشان می‌دهند که EOP عملکردی دوگانه بر قابلیت حرکت اسپرم ایفاء می‌کنند. از یک طرف، مورفین (آگونیست MOR) باعث کاهش حرکت اسپرم شده است و از طرف دیگر (آنتاگونیست DOR) نیز باعث کاهش حرکات اسپرم شده است (۲۷، ۲۸). (یک آنتاگونیست اپیوئیدی) در دوز بالا باعث کاهش قابل توجه تحرک اسپرم و در دوز پایین باعث افزایش قابل ملاحظه حرکات اسپرم می‌شود (۹۴). تحرک اسپرم نقش کلیدی در باروری در جنس نر ایفاء می‌کند زیرا رسیدن اسپرم به تخمک و نفوذ آن به داخل zona pellucida وابسته به قابلیت حرکت اسپرم است (۹۷). کاهش قابلیت حرکت اسپرم^{۱۵} یک یافته رایج در معتادان به مواد مخدر می‌باشد (۹۸). بیماران مبتلا به asthenozoospermia کاهش سطح metenkephalin (یک EOP) در غده وزیکول سمینال را نشان می‌دهند که نشان‌دهنده تأثیر سیستم اپیوئیدی بر تحرکات اسپرم می‌باشد (۹۹). EOP قادر به تنظیم تحرکات اسپرم هستند اما پژوهش‌های مختلف نتایج متقاضی در این زمینه ارائه کرده‌اند. از یک طرف گزارش شده است که غلظت بالای encephalin، encephalitin (DAMME) met encephalin (DYN) با کاهش تحرکات ساختگی DAMME است (۱۰۱) و از طرف دیگر به نظر می‌رسد که غلظت پایین encephalin برای حفظ تحرکات اسپرم ضروری باشد (۹۹) در حالی که سایر مطالعات گزارش کرده‌اند که metenkephalin هیچ‌گونه تأثیری بر حرکات اسپرم ندارد (۱۰۲). جدول خلاصه‌ای از این پژوهش‌های ضد و نقیض را نشان می‌دهد که ضرورت انجام مطالعات بیشتر جهت شناخت مکانیسم‌های دقیق EOP در باروری در جنس نر را نشان می‌دهد.

¹⁰ Signaling¹¹ Pro-dynorphin¹² Endogenous opioid peptides

NK3R توسط ژن TACR3 کد می‌شود. موتاسیون در این ژن و گیرنده آن TACR3 سبب هیپوگنادیسم و ناباروری به علت نقص در سنتز GnRH. نقص در بلوغ جنسی و نقص در گامتوزنز می‌شود (۸۳). مسیر پیام‌رسانی^{۱۶} NKB در نورواندوکرینولوژی تولیدمثلی ایفای نقش می‌کند. مطالعات نشان داده‌اند که NKB در یکسری از نورون‌های انفرادی در هیپوپalamوس سنتز می‌شود که در تنظیم ترشح GnRH نقش دارند. NKB همچنین با dynorphin و Kisspeptin در یکسری از نورون‌ها همزمان Kisspeptin KNDy (/) بیان می‌شود که به این نورون‌ها می‌گویند (۸۴). نتایج مطالعات تجربی NKB/Dynorphin نشان داده‌اند که علاوه بر نقش مرکزی NK3R و NKB در تنظیم عملکرد محیطی دستگاه تولیدمثلی نیز نقش دارند و هر دو در جفت، تخمدان و بیضه‌ها و پروستات وجود دارند. همچنین در سلول‌های مختلف تولیدمثل مانند اوسيت‌ها و اسپرمازوza بیان می‌شوند (۸۵).

اخیراً اثبات شده که موتاسیون در گیرنده NKB یا TACR3 در موش سبب کاهش FSH و کوچک شدن بیضه‌ها در جنس نر و سیکل‌های استتروس غیرطبیعی، کاهش وزن رحم، از بین رفتن جسم زرد در جنس ماده می‌شود. این نتایج نشان می‌دهد که همانند انسان و خزنده‌گان در موش نیز موتاسیون در TACR3 و پیام‌رسانی NKB به عنوان تنظیم‌کننده ترشح گنادوتروپین‌ها اهمیت دارد (۸۶).

نظرات در مورد نقش GnRH در تنظیم NKB متفاوت است. مطالعات اولیه اثر NKB بر روی آزادسازی LH نشان داده‌اند که آگونیست‌های گیرنده NKB منجر به کاهش آزادسازی LH در مدل حیوانی موش صحرایی می‌شود (۹). اگرچه سایر مطالعات حیوانی بیان کرده‌اند که آگونیست‌های گیرنده NKB منجر به تحریک آزادسازی LH می‌شود (۸۷). Jayasena و همکاران مطرح کردند که تجویز محیطی NKB در انسان‌های سالم اثری بر آزادسازی گنادوتروپین ندارد. اثبات شده که در شرایط هیپواستروژنیک، NKB از طریق مسیر پیام‌رسانی DYN سبب کاهش LH می‌شود در حالی که در قبل از بلوغ NKB سبب القای LH با واسطه Kisspeptin می‌شود.

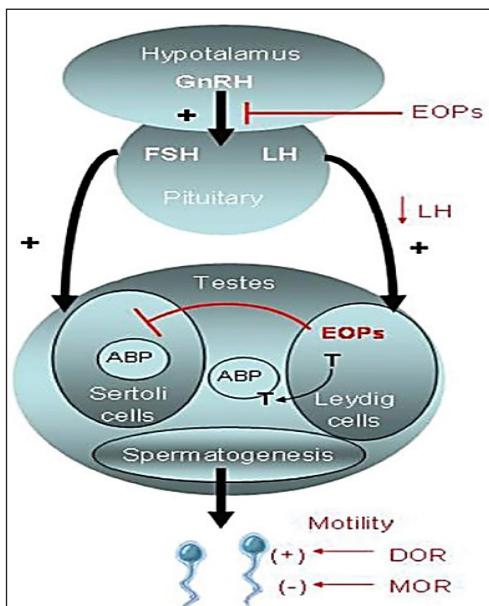
DYN

DYN و گیرنده آن KOR (گیرنده اپیوئیدی کاپا) به ترتیب توسط ژن‌های Opkr1^{۱۱} و Pdyn^{۱۲} بیان می‌شوند. تحقیقات نشان داده‌اند که بیان این دو ژن در قسمت میانی هیپوپalamوس در جنس نر نسبت به جنس ماده قبل از بلوغ بیشتر است (۸۸). DYN یک پپتید اپیوئیدی درون‌زاد (EOP)^{۱۳} است که به صورت فیدبک مهاری ترشح پروژسترون و GnRH را کنترل می‌کند (۸۹).

¹³ Pro-enkephalin¹⁴ Pro-opiomelanocortin¹⁵ Asthenozoospermia

جدول ۱- اثرات سیستم اپیوئیدی بر تحرک اسپرم، ظرفیت یابی آن و فعال شدن آکروزوم
ENK : Enkephalin. Nlx: naloxone. آکروزوم: آکروزوم.

| | منبع | فعال شدن آکروزوم | ظرفیت یابی | حرکت | |
|-------------|------|------------------|------------|--------|--|
| ↑[ENK] | ۱۰۰ | - | - | کاهش | |
| ↓[ENK] | ۹۹ | - | - | ضروری | |
| β-Endorphin | ۱۰۲ | - | - | کاهش | |
| DAMME | ۱۰۱ | کاهش | - | کاهش | |
| Morphine | ۲۷ | - | - | کاهش | |
| Naltrindol | ۲۸ | افزايش | افزايش | کاهش | |
| ↑[Nlx] | ۹۴ | - | - | کاهش | |
| ↓[Nlx] | ۹۴ | - | افزايش | افزايش | |
| Heroin | ۹۸ | - | - | کاهش | |
| Methadone | ۹۸ | - | - | کاهش | |
| ثمره نه | | | | | |



تصویر ۲- کنترل فعالیت تولیدمثلی جنس نر توسط سیستم اپیوئیدی. در سطح سیستم اعصاب مرکزی، EOP (Enkephalin) ترشح GnRH را مهار می‌کنند که متعاقباً باعث مهار آزادسازی LH از غده هیپوفیز می‌شود. در سطح بیضه، EOP عمدتاً توسط سلول‌های Leydig تحریک شده در اثر LH تولید می‌شوند و این مهاری خود را بر سلول‌های اعمال Sertoli می‌کنند که نتیجه آن کاهش سنتز بروتین‌های پاند شونده با آندروژن‌ها توسط سلول‌های Sertoli تحریک شده توسط FSH و متعاقباً کاهش تستوسترون در بیضه است (۱۱۲).

تولیدمثل در موش و در برخی گونه‌های جانوری دیگر تحت تأثیر طول روز (مدت روشنایی) و توسط ملاتونین تنظیم می‌شود. ملاتونین با کاهش میزان ROS و پراکسیداسیون لیپیدها در بیضه باعث محافظت از بیضه در برابر استرس اکسیداتیو القا شده در اثر شیمی درمانی می‌شود (۱۲۰). علاوه بر این، ملاتونین با تنظیم ترشح هورمون‌های محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-بیضه اثر خود را بر محرک‌های GnRH از جمله Kisspeptin اعمال می‌کند (۱۲۱). یکی از مکانیسم‌های عملکرد ملاتونین افزایش بیان ژن‌های Kiss1 و Kiss2 و GnRH3 است که باعث افزایش میزان kiss2 و به دنبال آن افزایش بلوغ بیضه‌ها و قابلیت تولیدمثلی می‌شود (۱۲۲).

چندین مطالعه با بهره‌گیری از آنتاگونیست‌های GnRH، مهار آزادسازی GnRH القا شده با naloxone را گزارش کرده‌اند (۱۰۴-۱۰۶) که باعث شده است این فرضیه توسعه یابد که نوروپپتیدهای مخدوش زاد باعث مهار آزادسازی GnRH از هیپotalamus می‌شوند (۱۰۷، ۱۰۸). این موضوع که مصرف بیش از حد مواد مخدر به صورت اولیه باعث تحلیل بیضه‌ها و ناباروری می‌شود تأیید‌کننده مطالعات ذکر شده می‌باشد (۱۰۹). تریق محیطی مورفین با مهار آزادسازی LH همراه است در حالی که آنتاگونیست‌های مورفین (naltrexone) باعث افزایش سطح سرمی LH در انسان و طی وسیعی از حیوانات می‌شوند (۱۱۰، ۱۱۱) که پتاسیل آنتاگونیست‌های اپیوئیدی در بهبود ناباروری القا شده در اثر شیمی درمانی را نشان می‌دهد. هر چند که تعیین دوز و مدت زمان تجویز آنتاگونیست‌های اپیوئیدی بهمنظور بهبود ناباروری نیازمند انجام پژوهش‌های بیشتری است چرا که وجود مقادیر اندک Enkephalin برای تحرک اسپرم ضروری است و از طرفی نشان داده شده است که آنتاگونیست‌های اپیوئیدی خود باعث کاهش تحرک اسپرم می‌شوند (۹۴).

ملاتونین و نوروپپتیدها

مطالعات زیادی ثابت کرده‌اند که برخی آنتی اکسیدان‌ها قادر به مهار انتخابی سلول‌های توموری، القای تمايز سلول‌های توموری، تغییر وضعیت اکسیداسیون-احیای داخل سلول‌های توموری و بهبود نتایج شیمی درمانی می‌شوند (۱۱۷-۱۱۳). علاوه بر این، آنتی اکسیدان‌ها قادر به کاهش برخی عوارض جانبی داروهای شیمی درمانی هستند هر چند که این نگرانی وجود دارد که آنتی اکسیدان‌ها از این طریق باعث کاهش اثرات سودمند داروهای شیمی درمانی شوند (۱۱۸، ۱۱۹). ملاتونین یکی از آنتی اکسیدان‌های مورد توجه برای کاهش ناباروری در مردان در معرض شیمی درمانی می‌باشد.

شناخت

ایفاء می‌کنند. سلول‌های Sertoli منبع اصلی تولید Estrogen در موش‌های نابالغ هستند (۱۳۴). ملاتونین در بیضه موش بر اساس مرحله بلوغ سلول‌های زایا، رونویسی از آنزیم aromatase را تغییر می‌دهد به طوری که سطح رونویسی در سلول‌های زایا جوان تر بالاتر و در سلول‌های زایا بالغ پایین‌تر می‌باشد (۱۳۵). کشت همزمان سلول‌های Sertoli و Leydig نشان داده است که در حقیقت ملاتونین با تحریک ترشح فاکتور رشد شبه انسولینی ۱ از سلول‌های Sertoli باعث تحریک ترشح تستوسترون از سلول‌های Leydig و افزایش اسپرماتوژن می‌شود (۱۳۶). علاوه بر این ملاتونین با قابلیت ضد آنتی اکسیدانی خود با کاهش میزان رادیکال‌های واکنش‌پذیر اکسیژن و پراکسیداسیون لبیدها نقش محافظت کننده در بیضه ایفاء می‌کند چرا که سلول‌های زایای بیضه بهشت در ROS حساس هستند و ROS به عنوان یکی از عوامل asthenozoospermia در جنس نر شناخته می‌شود (۱۲۰). تلقیح همزمان ملاتونین با پیوند سلول‌های بنیادی spermatogonia در بیضه موش‌های مبتلا به azoospermia باعث افزایش اثرات پیوند و بهبود ساختار بافتی بیضه می‌شود (۱۳۷).

نتیجه‌گیری

پیشرفت‌های اخیر در درمان سرطان به کمک شیمی درمانی با افزایش احتمال ناباروری در مردان جوان مبتلا به سرطان‌های بدخیم همراه بوده است. مداخلات جراحی و دارویی جدید معمولاً از آسیب به اعصاب تناسلی اجتناب می‌کنند اما حفظ تعادل هورمونی به منظور ادامه باروری بسیار دشوارتر می‌باشد. در سال‌های اخیر KISSPEPTIN به عنوان یک نوروپپتید تازه شناخته شده توجه ویژه‌ای به خود معطوف کرده است. KISSPEPTIN که در نام قبیمی metastin یک پروتئین KISSPEPTIN است که توسط ژن KISS1 کد می‌شود. KISSPEPTIN عمدها در هسته‌های AVPV و ARC هیپوپotalamus یافت می‌شود. KISSPEPTIN و گیرنده آن (گیرنده پروتئینی G54) مجموعه‌ای را تشکیل می‌دهند که شروع بلوغ و حفظ قابلیت باروری در طول زندگی را ممکن می‌کند. این مجموعه با تحریک ترشح GnRH از هیپوپotalamus باعث آزادسازی FSH و LH از هیپوفیز قدامی می‌شود. FSH و LH واسطه‌های اصلی در تغییرات فیزیولوژیک و آناتومیک دوره بلوغ هستند. ژن KISS1 به صورت اولیه به عنوان یکی از ژن‌های سرکوب‌گر متاستاز در انسان شناخته شد. بنابراین KISSPEPTIN قابلیت مهار تهاجم سلول‌های سرطانی بهویژه سلول‌های سرطانی شده پستان و پروستات را دارد.

هر چند که به نظر نمی‌رسد Kisspeptin تولید شده در نورون‌های KNDy در اثرات فیدبک منفی

ملاتونین با تنظیم ترشح هورمون‌های محور هیپوپotalamus –هیپوفیز بیضه اثر خود را بر محرك‌های GnRH از جمله Kisspeptin اعمال می‌کند (۱۲۱). ملاتونین به عنوان جزء ترشحی اصلی غده pineal دارای خاصیت آب‌گریز و آبدوست می‌باشد و به همین علت قادر به عبور از سد خونی بیضه‌ایی و تأثیر مستقیم بر سلول‌های بیضه است. ملاتونین از طریق گیرنده‌های متعددی از جمله گیرنده‌های ملاتونینی MT1، MT2 و ROR^a که در طیف وسیعی از سلول‌های پستانداران از جمله سلول‌های بیضه دیده می‌شوند عمل می‌کند (۱۲۲). گیرنده‌های MT1 و MT2 با اتصال به پروتئین G و تنظیم سیگنال cAMP باعث افزایش سنتز تستوسترون می‌شوند (۱۲۴). ROR^a با فعل کردن آنزیم aromatase باعث تبدیل هورمون‌های androgen به estrogen می‌شود (۱۲۵). ملاتونین در حیواناتی که در زمان افزایش مدت زمان روشنایی روز^{۱۷} تولیدمثل می‌کنند باعث کاهش بیان گیرنده‌های androgen و پروتئین‌های باند شونده با آن‌ها می‌شود که کاهش تستوسترون، حجم بافت بیضه و سنتز آندروژن‌ها را به دنبال دارد (۱۲۶، ۱۲۷). بر عکس در حیواناتی که در زمان کاهش مدت زمان روشنایی^{۱۸} تولیدمثل می‌کنند ملاتونین باعث افزایش فعالیت بیضه‌ها می‌شود (۱۲۸). به طوری که در روزهای کوتاه زمستان کاهش ملاتونین ناشی از کاهش شدید بیان Kisspeptin باعث آتروفی بیضه‌ها در همسر می‌شود. در این حالت، تزریق داخل صفاقی حاد Kisspeptin باعث القای بیان c-Fos در تعداد زیادی از نورون‌های GnRH و افزایش قابل توجه تستوسترون می‌شود (۱۲۹، ۱۳۰). ملاتونین باعث افزایش بلوغ بیان ژن‌های kiss1، Kiss2 و GnRH3 و kiss2 باعث افزایش بلوغ بیضه‌ها و افزایش قابلیت تولیدمثلی در جنس نر در برخی گونه‌های جانوری می‌شود (۱۲۲). ملاتونین علاوه بر این، Kisspeptin با مکانیسم‌های دیگری نیز بر تولیدمثل در جنس نر مؤثر است. هر چند که مکانیسم دقیق تأثیر متقابل ملاتونین و Kisspeptin به درستی شناسایی نشده است و در حقیقت محور Kisspeptin –ملاتونین تبدیل به یکی از مورد توجه‌ترین جنبه‌های تولیدمثل در جنس نر شده است (۱۳۱).

ملاتونین عملکرد سلول‌های Sertoli و Leydig را تنظیم می‌کند

ملاتونین در عملکرد دستگاه تولیدمثلی در جنس نر به‌ویژه عملکرد بیضه‌ها مؤثر است زیرا سلول‌های Leydig حساس به ملاتونین هستند (۱۳۲، ۱۳۳). سلول‌های Leydig محل سنتز و ترشح تستوسترون هستند و عملکردشان توسط فاکتور رشد شبه انسولینی مترشحه از سلول‌های Sertoli تنظیم می‌شود. هورمون‌های Estrogen نقش اساسی در عملکرد بیضه‌ها

^{۱۶} Retinoic acid receptor-related orphan receptor A

^{۱۷} Long-day

^{۱۸} Short-day

KNDy می‌تواند در درمان بسیاری از بیماری‌های تولیدمثی مفید باشد.

اخيراً ثابت شده است که آنتی اکسیدان ملاتونین KISSPEPTIN به عنوان جزء ترشحی اصلی غده pineal با ارتباطات عملکردی نزدیکی دارد. به طوری که ملاتونین در حیواناتی که در روزهای بلند سال تولیدمثی می‌کنند باعث کاهش بیان گیرنده‌های آندروژن‌ها و پروتئین‌های باند شونده با آن‌ها می‌شود که کاهش تستوسترون، حجم بافت بیضه و سنتز آندروژن‌ها را به دنبال دارد. بر عکس در حیواناتی که در روزهای کوتاه سال تولیدمثی می‌کنند ملاتونین باعث افزایش فعالیت بیضه‌ها می‌شود. علاوه بر این ملاتونین با قابلیت ضد آنتی اکسیدانی خود باعث کاهش رخداد استرس اکسیداتیو در بیضه و افزایش احتمال باروری در جنس نر می‌شود. مطالعات تجربی نشان داده‌اند که ملاتونین می‌تواند سبب سرکوب ترشح GnRH شود بنابراین تجویز ملاتونین برونزاد یا آگزوژن ممکن است بر روی بلوغ کودکان تأثیر بگذارد.

اثبات شده که پیام‌رسانی Kisspeptin بر روی نورون‌های GnRH و ملاتونین تأثیر می‌گذارد. در خزندگان و گوسفند اغلب نورون‌های GnRH (بیش از ۹۰ درصد) گیرنده Kiss1r (Kisspeptin) را بیان می‌کنند. اعتقاد بر این است که ملاتونین سبب کاهش بیان Kisspeptin در فاز حاد می‌شود در حالی که تأثیر طولانی‌مدت آن افزایش Kisspeptin را به همراه دارد. به عبارت دیگر می‌توان گفت تأثیر ملاتونین بر دستگاه تولیدمثی توسط Kisspeptin تنظیم می‌شود.

مطالعات ایمونویستوژنی وجود EOP، گیرنده‌ها و آنزیم‌های تجزیه‌کننده آن‌ها در سلول‌های مختلف بیضه را نشان می‌دهند. مکانیسم دقیق عملکرد نوروپیتیدهای مخدری درون‌زاد در دستگاه تولیدمثی در جنس نر به درستی مشخص نشده است به طوری که مورفین (آگونیست MOR) باعث کاهش تحرک اسپرم می‌شود و از طرف دیگر naltrindole (آنتاگونیست DOR) نیز باعث کاهش تحرکات اسپرم می‌شود که نشان‌دهنده ضرورت انجام مطالعات بیشتری می‌باشد.

انجام پژوهش‌های بیشتر در خصوص مکانیسم‌های عملکرد ملاتونین، Kisspeptin و سلول‌های EOP در تنظیم هورمون‌های استروئیدی و بررسی گیرنده‌های آن‌ها از دیدگاه مولکولی می‌تواند رویکرد نو برای درمان ناباروری القا شده توسط شیمی درمانی در جنس نر توسعه دهد.

نقشی داشته باشد اما DYN مترشحه از سلول‌های KNDy این نقش را ایفاء می‌کند. در حال حاضر به صورت گسترده پذیرفته شده است که مهار فرکانس موج‌های GnRH/LH توسط EOP توسط گوسفند نشان داده است که این EOP در واقع DYN می‌باشد (۱۶، ۳۸، ۱۳۸). این موضوع توسط ۲ یافته زیر تأیید می‌شود: ۱- همه نورون‌های KNDy حاوی گیرنده‌های پروژسترون هستند (۱۳۹)؛ ۲- تزریق موضعی آنتاگونیست گیرنده (KOR) DYN در قسمت قاعده‌ای میانی هیپوپalamوس باعث افزایش فرکانس موج LH می‌شود در حالی که آنتاگونیست‌های سایر EOP‌ها قادر به این کار نمی‌باشند (۱۴۰).

مطالعات انسانی نیز تأیید کننده این موضوع هستند که EOP‌ها واسطه اثر فیدبک منفی progesterone می‌باشند (۱۳۸) به طوری که بیان mRNA مربوط به DYN در هسته‌های ARC در دوران پس از یائسگی زنان افزایش می‌یابد (۱۴۰). هر چند که DYN واسطه اثر فیدبک منفی progesterone در گوسفند و پریمات‌ها است اما نقش آن در جوندگان کمتر می‌باشد که ممکن است به علت کوتاه بودن فاز لوتشال آن‌ها باشد. امواج GnRH در اثر افزایش اولیه NKB در تعداد کمی از نورون‌های KNDy تحريك می‌شوند که به نوبه خود باعث آزادسازی بیشتر NKB می‌شود و این چرخه فیدبک مثبت ادامه می‌یابد تا زمانی که باعث آزادسازی Kisspeptin به داخل نورون‌های GnRH شود و به دنبال آن افزایش سریع GnRH رخ دهد. تحريك نورون‌های KNDy توسط NKB باعث آزادسازی DYN نیز می‌شود. اثرات مهاری Kisspeptin بر DYN ابتدا باعث کاهش آزادسازی Kisspeptin می‌شود اما چند دقیقه بعد باعث سرکوب کامل آزادسازی Kisspeptin و متعاقباً توقف ترشح GnRH بین امواج می‌شود. اثر DYN بر سلول‌های KNDy باعث مهار آزادسازی خود NKB و شروع موج می‌شود که به دنبال آن افزایش GnRH (۱۴۱). با توجه به نقش بعدی GnRH را شاهد هستیم (۱۴۲)، با توجه به مستقیم سلول‌های KNDy در کنترل ترشح GnRH و با توجه به این نکته که رخداد جهش در ژن‌های اجزاء سلولی نورون‌های KNDy با موارد ناباروری در انسان همراه بوده است (۱۴۳، ۵۲، ۵۳، ۱۴۲)، انتظار می‌رود که با دستکاری اجزاء این گروه سلولی بتوان برخی موارد ناباروری در جنس نر را درمان کرد. به طوری که چندین پژوهش نشان داده است که آنتاگونیست‌های Kisspeptin پتانسیل درمان نارسایی‌های تولیدمثی ناشی از افزایش فرکانس امواج LH را دارا می‌باشند (۱۴۴-۱۴۶). بنابراین، درک چگونگی سنتز و آزادسازی هر یک از نوروپیتیدهای

1. Aslam I, Fishel S, Moore H, Dowell K, Thornton S. Fertility preservation of boys undergoing anti-cancer therapy: a review of the existing situation and prospects for the future: opinion. *Human Reproduction*. 2000; 15(10): 2154-9.
2. Schrader M, Heicappell R, Müller M, Straub B, Miller K. Impact of chemotherapy on male fertility. *Onkologie*. 2001; 24(4): 326-30.
3. Smith DB, Babaian R. The effects of treatment for cancer on male fertility and sexuality. *Cancer Nurs*. 1992; 15(4): 271-5.
4. Kuczyk M, Machtens S, Bokemeyer C, Schultheiss D, Jonas U. Sexual function and fertility after treatment of testicular cancer. *Curr Opin Urol*. 2000; 10(5): 473-7.
5. McCaffrey JA, Bajorin DF. Therapy for good risk germ cell tumors. *Semin Oncol*. 1998; 25(2): 186-93.
6. Ohl D, Sonksen J. What are the chances of infertility and should sperm be banked? *Semin Urol Oncol*. 1996; 14(1): 36-44.
7. Goodman RL, Lehman MN, Smith JT, Coolen LM, De Oliveira CV, Jafarzadehshirazi MR, et al. Kisspeptin neurons in the arcuate nucleus of the ewe express both dynorphin A and neurokinin B. *Endocrinology*. 2007; 148 (12): 5752-60.
8. Burke MC, Letts PA, Krajewski SJ, Rance NE. Coexpression of dynorphin and neurokinin B immunoreactivity in the rat hypothalamus: morphologic evidence of interrelated function within the arcuate nucleus. *J Comp Neurol*. 2006; 498(5): 712-26.
9. Navarro VM, Gottsch ML, Chavkin C, Okamura H, Clifton DK, Steiner RA. 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.
10. Ciofi P, Leroy D, Tramu G. Sexual dimorphism in the organization of the rat hypothalamic infundibular area. *Neuroscience*. 2006; 141(4): 1731-45.
11. Kinoshita M, Tsukamura H, Adachi S, Matsui H, Uenoyama Y, Iwata K, et al. Involvement of central metastin in the regulation of preovulatory luteinizing hormone surge and estrous cyclicity in female rats. *Endocrinology*. 2005; 146(10): 4431-6.
12. Clarkson J, Herbison AE. Postnatal development of kisspeptin neurons in mouse hypothalamus; sexual dimorphism and projections to gonadotropin-releasing hormone neurons. *Endocrinology*. 2006; 147(12): 5817-25.
13. Ramaswamy S, Guerriero KA, Gibbs RB, Plant TM. Structural interactions between kisspeptin and GnRH neurons in the mediobasal hypothalamus of the male rhesus monkey (*Macaca mulatta*) as revealed by double immunofluorescence and confocal microscopy. *Endocrinology*. 2008; 149(9): 4387-95.
14. Dahl SK, Amstalden M, Coolen L, Fitzgerald M, Lehman M. Dynorphin immunoreactive fibers contact GnRH neurons in the human hypothalamus. *Reprod Sci*. 2009; 16(8): 781-7.
15. Wakabayashi Y, Nakada T, Murata K, Ohkura S, Mogi K, Navarro VM, et al. Neurokinin B and dynorphin A in kisspeptin neurons of the arcuate nucleus participate in generation of periodic oscillation of neural activity driving pulsatile gonadotropin-releasing hormone secretion in the goat. *J Neurosci*. 2010; 30(8): 3124-32.
16. Karsch FJ. Central actions of ovarian steroids in the feedback regulation of pulsatile secretion of luteinizing hormone. *Annu Rev Physiol*. 1987; 49(1): 365-82.
17. Oakley AE, Clifton DK, Steiner RA. Kisspeptin signaling in the brain. *Endocr Rev*. 2009; 30(6): 713-43.
18. Smith JT, Cunningham MJ, Rissman EF, Clifton DK, Steiner RA. Regulation of Kiss1 gene expression in the brain of the female mouse. *Endocrinology*. 2005; 146(9): 3686-92.
19. Smith JT, Popa SM, Clifton DK, Hoffman GE, Steiner RA. Kiss1 neurons in the forebrain as central processors for generating the preovulatory luteinizing hormone surge. *J Neurosci*. 2006; 26(25): 6687-94.
20. Smith JT, Clay CM, Caraty A, Clarke IJ. Kiss-1 messenger ribonucleic acid expression in the hypothalamus of the ewe is regulated by sex steroids and season. *Endocrinology*. 2007; 148(3): 1150-7.
21. Rometo AM, Krajewski SJ, Lou Voytko M, Rance NE. Hypertrophy and increased kisspeptin gene expression in the hypothalamic infundibular nucleus of postmenopausal women and ovariectomized monkeys. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007; 92(7): 2744-50.
22. Navarro VM, Tena-Sempere M. Neuroendocrine control by kisspeptins: role in metabolic regulation of fertility. *Nat Rev Endocrinol*. 2012; 8(1): 40-53.
23. Skorupskaite K, George JT, Anderson RA. The kisspeptin-GnRH pathway in human reproductive health and disease. *Hum Reprod Update*. 2014; 20(4): 485-500.

24. Ko EY, Sabanegh Jr ES, Agarwal A. Male infertility testing: reactive oxygen species and antioxidant capacity. *Fertil Steril.* 2014; 102(6): 1518-27.
25. Frungieri M, Calandra R, Rossi S. Local actions of melatonin in somatic cells of the testis. *Int J Mol Sci.* 2017; 18(6): 1170. doi: 10.3390/ijms18061170.
26. Alvarado MV, Carrillo M, Felip A. Melatonin-induced changes in kiss/gnRH gene expression patterns in the brain of male sea bass during spermatogenesis. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol.* 2015; 185: 69-79.
27. Agirre Goitia E, Valdivia A, Carracedo A, Casis L, Gil J, Subiran N, et al. Expression and Localization of δ -, κ -, and μ -opioid receptors in human spermatozoa and implications for sperm motility. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006; 91(12): 4969-75.
28. Albrizio M, Lacalandra GM, Miccera E, Guaricci AC, Nicassio M, Zarrilli A. Delta opioid receptor on equine sperm cells: subcellular localization and involvement in sperm motility analyzed by computer assisted sperm analyzer (CASA). *Reprod Biol Endocrinol.* 2010; 8(1):78. doi: 10.1186/1477-7827-8-78.
29. Lee J-H, Miele ME, Hicks DJ, Phillips KK, Trent JM, Weissman BE, et al. KiSS-1, a novel human malignant melanoma metastasis-suppressor gene. *JNCI.* 1996; 88(23): 1731-7.
30. Clements MK, McDonald TP, Wang R, Xie G, O'Dowd BF, George SR, et al. FMRFamide-related neuropeptides are agonists of the orphan G-protein-coupled receptor GPR54. *Biochem Biophys Res Commun.* 2001; 284(5): 1189-93.
31. Kotani M, Dethieux M, Vandenbogaerde A, Communi D, Vanderwinden J-M, Le Poul E, et al. The metastasis suppressor gene KiSS-1 encodes kisspeptins, the natural ligands of the orphan G protein-coupled receptor GPR54. *J Biol Chem.* 2001; 276(37): 34631-6.
32. Ohtaki T, Shintani Y, Honda S, Matsumoto H, Hori A, Kanehashi K, et al. Metastasis suppressor gene KiSS-1 encodes peptide ligand of a G-protein-coupled receptor. *Nature.* 2001; 411(6837): 613-7.
33. Liu X, Lee K, Herbison AE. Kisspeptin excites gonadotropin-releasing hormone neurons through a phospholipase C/calcium-dependent pathway regulating multiple ion channels. *Endocrinology.* 2008; 149(9): 4605-14.
34. Irwig MS, Fraley GS, Smith JT, Acohido BV, Popa SM, Cunningham MJ, et al. Kisspeptin activation of gonadotropin releasing hormone neurons and regulation of KiSS-1 mRNA in the male rat. *Neuroendocrinology.* 2004; 80(4): 264-72.
35. Novaira HJ, Ng Y, Wolfe A, Radovick S. Kisspeptin increases GnRH mRNA expression and secretion in GnRH secreting neuronal cell lines. *Mol Cell Endocrinol.* 2009; 311(1-2): 126-34.
36. Fowler PA, Anderson RA, Saunders PT, Kinnell H, Mason JI, Evans DB, et al. Development of steroid signaling pathways during primordial follicle formation in the human fetal ovary. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011; 96(6): 1754-62.
37. Courot M, Ortavant R. Endocrine control of spermatogenesis in the ram. *J Reprod Fertil Suppl.* 1981; 30: 47-60.
38. Neill JD. Knobil and Neill's physiology of reproduction: Academic Press; 2005.
39. Gottsch ML, Clifton DK, Steiner RA. From KiSS1 to kisspeptins: an historical perspective and suggested nomenclature. *Peptides.* 2009; 30(1): 4-9.
40. Thompson EL, Murphy KG, Patterson M, Bewick GA, Stamp GW, Curtis A, et al. Chronic subcutaneous administration of kisspeptin-54 causes testicular degeneration in adult male rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2006; 291(5): 1074-82.
41. Muir AI, Chamberlain L, Elshourbagy NA, Michalovich D, Moore DJ, Calamari A, et al. AXOR12, a novel human G protein-coupled receptor, activated by the peptide KiSS-1. *J Biol Chem.* 2001; 276(31): 28969-75.
42. Constantin S, Caligioni CS, Stojilkovic S, Wray S. Kisspeptin-10 facilitates a plasma membrane-driven calcium oscillator in gonadotropin-releasing hormone-1 neurons. *Endocrinology.* 2008; 150(3): 1400-12.
43. Gaytan F, Gaytan M, Castellano JM, Romero M, Roa J, Aparicio B, et al. Kiss-1 in the mammalian ovary: distribution of kisspeptin in human and marmoset, and alterations in kiss-1 mRNA levels in a rat model of ovulatory dysfunction. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2009; 296(3): 520-31.
44. Gottsch M, Cunningham M, Smith J, Popa S, Acohido B, Crowley W, et al. A role for kisspeptins in the regulation of gonadotropin secretion in the mouse. *Endocrinology.* 2004; 145(9): 4073-7.
45. Rance NE, Young III WS, McMullen NT. Topography of neurons expressing luteinizing hormone-releasing hormone gene transcripts in the human hypothalamus and basal forebrain. *J Comp Neurol.* 1994; 339(4): 573-86.

46. d'Anglemont de Tassigny X, Fagg LA, Carlton MB, Colledge WH. Kisspeptin can stimulate gonadotropin-releasing hormone (GnRH) release by a direct action at GnRH nerve terminals. *Endocrinology*. 2008; 149(8): 3926-32.
47. Herbison AE, d'Anglemont de Tassigny X, Doran J, Colledge WH. Distribution and postnatal development of Gpr54 gene expression in mouse brain and gonadotropin-releasing hormone neurons. *Endocrinology*. 2010; 151(1): 312-21.
48. Messager S, Chatzidaki EE, Ma D, Hendrick AG, Zahn D, Dixon J, et al. Kisspeptin directly stimulates gonadotropin-releasing hormone release via G protein-coupled receptor 54. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005; 102(5): 1761-6.
49. Thompson E, Patterson M, Murphy K, Smith K, Dhillo W, Todd J, et al. Central and peripheral administration of kisspeptin-10 stimulates the hypothalamic-pituitary-gonadal axis. *J Neuroendocrinol*. 2004; 16(10): 850-8.
50. Dhillo WS, Chaudhri OB, Patterson M, Thompson EL, Murphy KG, Badman MK, et al. Kisspeptin-54 stimulates the hypothalamic-pituitary gonadal axis in human males. *J Clin Endocrinol Metab*. 2005; 90(12): 6609-15.
51. Dhillo WS, Chaudhri OB, Thompson EL, Murphy KG, Patterson M, Ramachandran R, et al. Kisspeptin-54 stimulates gonadotropin release most potently during the preovulatory phase of the menstrual cycle in women. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007; 92(10): 3958-66.
52. de Roux N, Genin E, Carel J-C, Matsuda F, Chaussain J-L, Milgrom E. Hypogonadotropic hypogonadism due to loss of function of the KiSS1-derived peptide receptor GPR54. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003; 100(19): 10972-6.
53. Seminara SB, Messager S, Chatzidaki EE, Thresher RR, Acierno Jr JS, Shagoury JK, et al. The GPR54 gene as a regulator of puberty. *N Engl J Med*. 2003; 349(17): 1614-27.
54. Chan Y-M, Broder-Fingert S, Paraschos S, Lapatto R, Au M, Hughes V, et al. GnRH-deficient phenotypes in humans and mice with heterozygous variants in KISS1/Kiss1. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011; 96(11): E1771-E81.
55. Topaloglu AK, Tello JA, Kotan LD, Ozbek MN, Yilmaz MB, Erdogan S, et al. Inactivating KISS1 mutation and hypogonadotropic hypogonadism. *New England Journal of Medicine*. 2012; 366(7): 629-35.
56. Navarro V, Fernandez-Fernandez R, Castellano J, Roa J, Mayen A, Barreiro M, et al. Advanced vaginal opening and precocious activation of the reproductive axis by KiSS-1 peptide, the endogenous ligand of GPR54. *J Physiol*. 2004; 561(2): 379-86.
57. Tariq A, Shahab M, Clarke I, Pereira A, Smith J, Sultan J, et al. Kiss1 and Kiss1 receptor expression in the rhesus monkey testis: a possible local regulator of testicular function. *Central European Journal of Biology*. 2013; 8(10): 968-74.
58. Salehi S, Adeshina I, Chen H, Zirkin BR, Hussain MA, Wondisford F, et al. Developmental and endocrine regulation of kisspeptin expression in mouse Leydig cells. *Endocrinology*. 2015; 156(4): 1514-22.
59. Hsu M-C, Wang J-Y, Lee Y-J, Jong D-S, Tsui K-H, Chiu C-H. Kisspeptin modulates fertilization capacity of mouse spermatozoa. *Reproduction*. 2014; 147(6): 835-45.
60. Pinto F, Cejudo-Román A, Ravina CG, Fernández-Sánchez M, Martín-Lozano D, Illanes M, et al. Characterization of the kisspeptin system in human spermatozoa. *Int J Androl*. 2012; 35(1): 63-73.
61. Hua M, Doran J, Kyle V, Yeo S-H, Colledge WH. Does kisspeptin signaling have a role in the testes? *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2013; 4: 198. doi: 10.3389/fendo.2013.00198.
62. Shahab M, Mastronardi C, Seminara SB, Crowley WF, Ojeda SR, Plant TM. Increased hypothalamic GPR54 signaling: a potential mechanism for initiation of puberty in primates. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005; 102(6): 2129-34.
63. Irfan S, Ehmeke J, Wahab F, Shahab M, Schlatt S. Intratesticular action of kisspeptin in rhesus monkey (*M acaca mulatta*). *Andrologia*. 2014; 46(6): 610-7.
64. Wahab F, Shahab M. Differential response of the primate HPG axis to N-methyl-D, L-aspartate, but not to Kisspeptin challenge under euglycemic and hypoglycemic conditions. *Horm Metab Res*. 2012; 44(06): 451-7.
65. Ramaswamy S, Seminara SB, Pohl CR, DiPietro MJ, Crowley Jr WF, Plant TM. Effect of continuous intravenous administration of human metastin 45–54 on the neuroendocrine activity of the hypothalamic-pituitary-testicular axis in the adult male rhesus monkey (*Macaca mulatta*). *Endocrinology*. 2007; 148(7): 3364-70.
66. Scott G, Ahmad I, Howard K, MacLean D, Oliva C, Warrington S, et al. Double-blind, randomized, placebo-controlled study of safety, tolerability, pharmacokinetics and pharmacodynamics of TAK-683, an investigational metastin analogue in healthy men. *Br J Clin Pharmacol*.

2013; 75(2): 381-91.

67. Wang J-Y, Hsu M-C, Tseng T-H, Wu L-S, Yang K-T, Chiu C-H. Kisspeptin expression in mouse Leydig cells correlates with age. *J Chin Med Assoc.* 2015; 78(4): 249-57.

68. Ramzan MH, Ramzan M, Ramzan F, Wahab F, Jelani M, Khan MA, et al. Insight into the serum kisspeptin levels in infertile males. *Arch Iran Med.* 2015; 18(1): 12-7.

69. Matsui H, Takatsu Y, Kumano S, Matsumoto H, Ohtaki T. Peripheral administration of metastin induces marked gonadotropin release and ovulation in the rat. *Biochem Biophys Res Commun.* 2004; 320(2): 383-8.

70. Chan Y-M, Butler JP, Pinnell NE, Pralong FP, Crowley Jr WF, Ren C, et al. Kisspeptin resets the hypothalamic GnRH clock in men. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011; 96(6): E908-E15.

71. George JT, Veldhuis JD, Roseweir A, Newton CL, Faccenda E, Millar RP, et al. Kisspeptin-10 is a potent stimulator of LH and increases pulse frequency in men. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011; 96(8): E1228-E36.

72. Young J, George JT, Tello JA, Francou B, Bouligand J, Guiochon-Mantel A, et al. Kisspeptin restores pulsatile LH secretion in patients with neurokinin B signaling deficiencies: physiological, pathophysiological and therapeutic implications. *Neuroendocrinology.* 2013; 97(2): 193-202.

73. Ramzan F, Qureshi IZ. Intraperitoneal kisspeptin-10 administration induces dose-dependent degenerative changes in maturing rat testes. *Life Sci.* 2011; 88(5-6): 246-56.

74. Thompson E, Amber V, Stamp G, Patterson M, Curtis A, Cooke J, et al. Kisspeptin-54 at high doses acutely induces testicular degeneration in adult male rats via central mechanisms. *Br J Pharmacol.* 2009; 156(4): 609-25.

75. Ramzan F, Khan MA, Ramzan MH. The effect of chronic kisspeptin administration on seminal fructose levels in male mice. *Endocrine.* 2014; 45(1): 144-7.

76. Rajfer J, Swerdloff RS, Heber DM. Testicular histology following chronic gonadotropin-releasing hormone agonist treatment. *Fertil Steril.* 1984; 42(5): 765-71.

77. Smith JA, Urry RL. Testicular histology after prolonged treatment with a gonadotropin-releasing hormone analogue. *J Urol.* 1985; 133(4): 612-4.

78. Mayerhofer A, Dubé D. Chronic administration of a gonadotropin-releasing hormone (GnRH) agonist affects testicular microvasculature. *Acta Endocrinol (Copenh).* 1989; 120(1): 75-80

79. León MD, Chiauzzi VA, Calvo JC, Charreau EH, Chemes HE. Acute hCG administration induces seminiferous tubule damage in the adult rat. *Acta Physiol Latinoam.* 1987; 37(2): 277-88.

80. Kerr J, Sharpe R. Focal disruption of spermatogenesis in the testis of adult rats after a single administration of human chorionic gonadotrophin. *Cell Tissue Res.* 1989; 257(1): 163-9.

81. Karaman IM, Kaya C, Ozturk M, Pirincci N, Yimazgumrukcu G, Tuken M. The effects of human chorionic gonadotrophin on normal testicular tissue of rats: dose-dependence and reversibility. *BJU Int.* 2006; 97(5): 1116-8.

82. Wahab F, Atika B, Shahab M, Behr R. Kisspeptin signalling in the physiology and pathophysiology of the urogenital system. *Nat Rev Urol.* 2016; 13(1): 21-32.

83. Lasaga M, Debeljuk L. Tachykinins and the hypothalamo-pituitary-gonadal axis: An update. *Peptides.* 2011; 32(9): 1972-8.

84. Rance NE. Menopause and the human hypothalamus: evidence for the role of kisspeptin/neurokinin B neurons in the regulation of estrogen negative feedback. *Peptides.* 2009; 30(1): 111-22.

85. Ravina CG, Seda M, Pinto F, Orea A, Fernández-Sánchez M, Pintado CO, et al. A role for tachykinins in the regulation of human sperm motility. *Hum Reprod.* 2007; 22(6): 1617-25.

86. Yang JJ, Caligioni CS, Chan Y-M, Seminara SB. Uncovering novel reproductive defects in neurokinin B receptor null mice: closing the gap between mice and men. *Endocrinology.* 2012; 153(3): 1498-508.

87. Ramaswamy S, Seminara SB, Ali B, Ciofi P, Amin NA, Plant TM. Neurokinin B stimulates GnRH release in the male monkey (*Macaca mulatta*) and is colocalized with kisspeptin in the arcuate nucleus. *Endocrinology.* 2010; 151(9): 4494-503.

88. Ruiz-Pino F, Garcia-Galiano D, Manfredi-Lozano M, Leon S, Sanchez-Garrido M, Roa J, et al. Effects and interactions of tachykinins and dynorphin on FSH and LH secretion in developing and adult rats. *Endocrinology.* 2014; 156(2): 576-88.

89. Goodman RL, Coolen LM, Anderson GM, Hardy SL,

- Valent M, Connors JM, et al. Evidence that dynorphin plays a major role in mediating progesterone negative feedback on gonadotropin-releasing hormone neurons in sheep. *Endocrinology*. 2004; 145(6): 2959-67.
90. Grachev P, Millar RP, O'Byrne KT. The role of neurokinin B signalling in reproductive neuroendocrinology. *Neuroendocrinology*. 2014; 99(1): 7-17.
91. Soverchia L, Mosconi G, Ruggeri B, Ballarini P, Catone G, Degl'Innocenti S, et al. Proopiomelanocortin gene expression and β -endorphin localization in the pituitary, testis, and epididymis of stallion. *Mol Reprod Dev*. 2006; 73(1): 1-8.
92. Fabbri A, Knox G, Buczko E, Dufau ML. β -endorphin production by the fetal Leydig cell: Regulation and implications for paracrine control of Sertoli cell function. *Endocrinology*. 1988; 122(2): 749-55.
93. Fabbri A, Jannini E, Gnessi L, Ulisse S, Moretti C, Isidori A. Neuroendocrine control of male reproductive function. The opioid system as a model of control at multiple sites. *J Steroid Biochem*. 1989; 32(1): 145-50.
94. Albrizio M, Guaricci AC, Calamita G, Zarrilli A, Minoia P. Expression and immunolocalization of the mu-opioid receptor in human sperm cells. *Fertil Steril*. 2006; 86(6): 1776-9.
95. Pintar JE, Schachter BS, Herman AB, Durgerian S, Krieger DT. Characterization and localization of proopiomelanocortin messenger RNA in the adult rat testis. *Science*. 1984; 225(4662): 632-4.
96. Kilpatrick DL, Millette CF. Expression of proenkephalin messenger RNA by mouse spermatogenic cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1986; 83(14): 5015-8.
97. Quill TA, Wang D, Garbers DL. Insights into sperm cell motility signaling through sNHE and the CatSpers. *Mol Cell Endocrinol*. 2006; 250(1-2): 84-92.
98. Ragni G, De Lauretis L, Bestetti O, Sghedoni D, Gambaro V. Gonadal function in male heroin and methadone addicts. *Int J Androl*. 1988; 11(2): 93-100.
99. Fujisawa M, Kanzaki M, Okada H, Arakawa S, Kamidono S. Metenkephalin in seminal plasma of infertile men. *Int J Urol*. 1996; 3(4): 297-300.
100. Sastry BR, Janson VE, Owens LK, Tayeb OS. Enkephalin-and substance P-like immunoreactivities of mammalian sperm and accessory sex glands. *Biochem Pharmacol*. 1982; 31(21): 3519-22.
101. Foresta C, Tramarin A, Scandellari C, Arslan P. Effects of a Met-Enkephalin Analogue on motility, O₂ Consumption, and ATP Content of Human Spermatozoa. *Arch Androl*. 1985; 14(2-3): 247-52.
102. Fraioli F, Fabbri A, Gnessi L, Silvestroni L, Moretti C, Redi F, et al. Beta-endorphin, Met-enkephalin, and calcitonin in human semen: evidence for a possible role in human sperm motility. *Ann N Y Acad Sci*. 1984; 438(1): 365-70.
103. Sharp B, Pekary AE. β -endorphin61-91 and other β -endorphin-immunoreactive peptides in human semen. *JCEM*. 1981; 52(3): 586-8.
104. Blank MS, Roberts DL. Antagonist of gonadotropin-releasing hormone blocks naloxone-induced elevations in serum luteinizing hormone. *Neuroendocrinology*. 1982; 35(5): 309-12.
105. Wilkes M, Yen S. Augmentation by naloxone of efflux of LRF from superfused medial basal hypothalamus. *Life Sci*. 1981; 28(21): 2355-9.
106. Blank MS, Fabbri A, Catt KJ, Dufau ML. Inhibition of luteinizing hormone release by morphine and endogenous opiates in cultured pituitary cells. *Endocrinology*. 1986; 118(5): 2097-101.
107. Bliesener N, Albrecht S, Schwager A, Weckbecker K, Lichtermann D, Klingmuller D. Plasma testosterone and sexual function in men receiving buprenorphine maintenance for opioid dependence. *J Clin Endocrinol Metab*. 2005; 90(1): 203-6.
108. Daniell HW. Hypogonadism in men consuming sustained-action oral opioids. *J Pain*. 2002; 3(5): 377-84.
109. Vuong C, Van Uum SH, O'dell LE, Lutfy K, Friedman TC. The effects of opioids and opioid analogs on animal and human endocrine systems. *Endocr Rev*. 2009; 31(1): 98-132.
110. Cicero TJ, Schainker BA, Meyer ER. Endogenous opioids participate in the regulation of the hypothalamic-pituitary-luteinizing hormone axis and testosterone's negative feedback control of luteinizing hormone. *Endocrinology*. 1979; 104(5): 1286-91.
111. Sirinathsinghji D, Whittington P, Audsley A, Fraser H. β -Endorphin regulates lordosis in female rats by modulating LH-RH release. *Nature*. 1983; 301(5895): 62-4.
112. Subirán N, Casis L, Irazusta J. Regulation of male fertility by the opioid system. *Mol Med*. 2011; 17(7-8): 846-53.

113. Conklin KA. Dietary antioxidants during cancer chemotherapy: impact on chemotherapeutic effectiveness and development of side effects. *Nutr Cancer*. 2000; 37(1): 1-18.
114. Conklin KA. Dietary polyunsaturated fatty acids: impact on cancer chemotherapy and radiation. (Review: essential fatty acids/cancer). *Altern Med Rev*. 2002; 7(1): 4-22.
115. Lamson DW, Brignall M. Antioxidants in cancer therapy; their actions and interactions with oncologic therapies. *Altern Med Rev*. 1999; 4(5): 304-29.
116. Prasad KN, Kumar A, Kochupillai V, Cole WC. High doses of multiple antioxidant vitamins: essential ingredients in improving the efficacy of standard cancer therapy. *J Am Coll Nutr*. 1999; 18(1): 13-25.
117. Prasad KN, Cole WC, Kumar B, Prasad KC. Scientific rationale for using high-dose multiple micronutrients as an adjunct to standard and experimental cancer therapies. *J Am Coll Nutr*. 2001; 20(5): 450S-63S.
118. Labriola D, Livingston R. Possible interactions between dietary antioxidants and chemotherapy. *Oncology (Williston Park)*. 1999; 13(7): 1003-8.
119. Agus DB, Vera JC, Golde DW. Stromal cell oxidation: a mechanism by which tumors obtain vitamin C. *Cancer Res*. 1999; 59(18): 4555-8.
120. Deng S-L, Sun T-C, Yu K, Wang Z-P, Zhang B-L, Zhang Y, et al. Melatonin reduces oxidative damage and upregulates heat shock protein 90 expression in cryopreserved human semen. *Free Radic Biol Med*. 2017; 113: 347-54.
121. Ahmad R, Haldar C. Effect of intra-testicular melatonin injection on testicular functions, local and general immunity of a tropical rodent Funambulus pennanti. *Endocrine*. 2010; 37(3): 479-88.
122. Carnevali O, Gioacchini G, Maradonna F, Olivotto I, Migliarini B. Melatonin induces follicle maturation in *Danio rerio*. *PLoS One*. 2011; 6(5): e19978.
123. Sanchez-Barcelo EJ, Mediavilla MD, Vriend J, Reiter RJ. Constitutive photomorphogenesis protein 1 (COP 1) and COP 9 signalosome, evolutionarily conserved photomorphogenic proteins as possible targets of melatonin. *J Pineal Res*. 2016; 61(1): 41-51.
124. Cipolla-Neto J, Amaral F, Afeche S, Tan D, Reiter R. Melatonin, energy metabolism, and obesity: a review. *J Pineal Res*. 2014; 56(4): 371-81.
125. Odawara H, Iwasaki T, Horiguchi J, Rokutanda N, Hirooka K, Miyazaki W, et al. Activation of aromatase expression by retinoic acid receptor-related orphan receptor (ROR) alpha in breast cancer cells: identification of a novel ROR response element. *J Biol Chem*. 2009; 284(26): 17711-9.
126. Qin F, Zhang J, Zan L, Guo W, Wang J, Chen L, et al. Inhibitory effect of melatonin on testosterone synthesis is mediated via GATA-4/SF-1 transcription factors. *Reprod Biomed Online*. 2015; 31(5): 638-46.
127. Casao A, Pérez-Pé R, Abecia JA, Forcada F, Muñoz-Blanco T, Cebrián-Pérez JÁ. The effect of exogenous melatonin during the non-reproductive season on the seminal plasma hormonal profile and the antioxidant defence system of Rasa Aragonesa rams. *Anim Reprod Sci*. 2013; 138(3-4): 168-74.
128. Mura MC, Luridiana S, Bodano S, Daga C, Cossio G, Diaz ML, et al. Influence of melatonin receptor 1A gene polymorphisms on seasonal reproduction in Sarda ewes with different body condition scores and ages. *Anim Reprod Sci* 2014; 149(3-4): 173-7.
129. Ansel L, Bentsen AH, Ancel C, Bolborea M, Klosen P, Mikkelsen JD, et al. Peripheral kisspeptin reverses short photoperiod-induced gonadal regression in Syrian hamsters by promoting GnRH release. *Reproduction*. 2011; 142(3): 417-25.
130. Henningsen JB, Poirel VJ, Mikkelsen JD, Tsutsui K, Simonneaux V, Gauer F. Sex differences in the photoperiodic regulation of RF-Amide related peptide (RFRP) and its receptor GPR147 in the syrian hamster. *J Comp Neurol*. 2016; 524(9): 1825-38.
131. Xu J, Li P. Expression of EAP1 and CUX1 in the hypothalamus of female rats and relationship with KISS1 and GnRH. *Endocr J*. 2016; 63(8): 681-90.
132. Li C, Zhou X. Melatonin and male reproduction. *Clin Chim Acta*. 2015; 446: 175-80.
133. Baburski AZ, Sokanovic SJ, Janjic MM, Stojkov-Mimic NJ, Bjelic MM, Andric SA, et al. Melatonin replacement restores the circadian behavior in adult rat Leydig cells after pinealectomy. *Mol Cell Endocrinol*. 2015; 413: 26-35.
134. Bilińska B, Schmalz-Frączek B, Kotula M, Carreau S. Photoperiod-dependent capability of androgen aromatization and the role of estrogens in the bank vole testis visualized by means of immunohistochemistry. *Mol Cell Endocrinol*. 2001; 178(1-2): 189-98.
135. Carreau S. Germ cells: a new source of estrogens

in the male gonad. *Mol Cell Endocrinol.* 2001; 178(1-2):65-72.

136. Deng S-L, Wang Z-P, Jin C, Kang X-L, Batool A, Zhang Y, et al. Melatonin promotes sheep Leydig cell testosterone secretion in a co-culture with Sertoli cells. *Theriogenology.* 2018; 106: 170-77.

137. Gholami M, Saki G, Hemadi M, Khodadadi A, Mohammadi-asl J. Melatonin improves spermatogonial stem cells transplantation efficiency in azoospermic mice. *Iran J Basic Med Sci.* 2014; 17(2): 93-9.

138. Ferin M, Van Vugt D, Wardlaw S, editors. The hypothalamic control of the menstrual cycle and the role of endogenous opioid peptides. *Recent Prog Horm Res.* 1984; 40: 441-85.

139. Foradori CD, Coolen LM, Fitzgerald ME, Skinner DC, Goodman RL, Lehman MN. Colocalization of progesterone receptors in parvicellular dynorphin neurons of the ovine preoptic area and hypothalamus. *Endocrinology.* 2002; 143(11): 4366-74.

140. Rometo A, Rance NE. Changes in prodynorphin gene expression and neuronal morphology in the hypothalamus of postmenopausal women. *J Neuroendocrinol.* 2008; 20(12): 1376-81.

141. Moenter SM, Brand RC, Karsch FJ. Dynamics of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) secretion during the GnRH surge: insights into the mechanism of

GnRH surge induction. *Endocrinology.* 1992; 130(5): 2978-84.

142. Topaloglu AK, Reimann F, Guclu M, Yalin AS, Kotan LD, Porter KM, et al. TAC3 and TACR3 mutations in familial hypogonadotropic hypogonadism reveal a key role for Neurokinin B in the central control of reproduction. *Nat Genet.* 2009; 41(3): 354-8.

143. Guran T, Tolhurst G, Bereket A, Rocha N, Porter K, Turan S, et al. Hypogonadotropic hypogonadism due to a novel missense mutation in the first extracellular loop of the neurokinin B receptor. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009; 94(10): 3633-9.

144. Pastor CL, Griffin-Korf ML, Aloia JA, Evans WS, Marshall JC. Polycystic ovary syndrome: evidence for reduced sensitivity of the gonadotropin-releasing hormone pulse generator to inhibition by estradiol and progesterone. *J Clin Endocrinol Metab.* 1998; 83(2): 582-90.

145. Roseweir AK, Kauffman AS, Smith JT, Guerriero KA, Morgan K, Pielecka-Fortuna J, et al. Discovery of potent kisspeptin antagonists delineate physiological mechanisms of gonadotropin regulation. *J Neurosci.* 2009; 29(12): 3920-9.

146. Blank S, McCartney C, Marshall J. The origins and sequelae of abnormal neuroendocrine function in polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod Update.* 2006; 12(4): 351-61.