

**ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΖΩΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΚΑΙ
ΥΔΑΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΩΝ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΑΝΑΤΟΜΙΑΣ ΚΑΙ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑΣ**

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΜΕΛΕΤΗ

**ΜΕΤΑΒΟΛΙΚΕΣ ΟΡΜΟΝΕΣ ΚΑΙ ΕΙΣΟΔΟΣ ΣΤΗΝ ΗΒΗ
ΣΤΟ ΠΡΟΒΑΤΟ**

Παζάλος Αλέξανδρος

Εξεταστική επιτροπή

Χαδιώ Σ. Αναπληρώτρια Καθηγήτρια

Δεληγεώργης Σ. Καθηγητής

Μενεγάτος Ι. Καθηγητής

Μπιζέλης Ι. Αναπληρωτής Καθηγητής

Παπαδομιχελάκης Γ. Λέκτορας

Αθήνα 2009

**ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΖΩΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΚΑΙ
ΥΔΑΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΩΝ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΑΝΑΤΟΜΙΑΣ ΚΑΙ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑΣ**

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΜΕΛΕΤΗ

**ΜΕΤΑΒΟΛΙΚΕΣ ΟΡΜΟΝΕΣ ΚΑΙ ΕΙΣΟΔΟΣ ΣΤΗΝ ΗΒΗ
ΣΤΟ ΠΡΟΒΑΤΟ**

Αλέξανδρος Παζάλος

Εξεταστική επιτροπή

Χαδιώ Σ. Αναπληρώτρια Καθηγήτρια

Δεληγεώργης Σ. Καθηγητής

Μενεγάτος Ι. Καθηγητής

Μπιζέλης Ι. Αναπληρωτής Καθηγητής

Παπαδομιχελάκης Γ. Λέκτορας

Αθήνα 2009

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θέλω να ευχαριστήσω όλους όσους συνέβαλαν στην υλοποίηση της παρούσας μεταπτυχιακής διατριβής.

Ειδικότερα ευχαριστώ θερμά:

Την Αναπληρώτρια Καθηγήτρια κα. Στυλιανή Χαδιώ για την ανάθεση του θέματος, την επιστημονική καθοδήγηση, τη παροχή βιβλιογραφίας και τη πολύτιμη βοήθεια που μου προσέφερε.

Τον Αναπληρωτή Καθηγητή κ. Ιωσήφ Μπιζέλη για τη παροχή βιβλιογραφίας καθώς και για τις χρήσιμες υποδείξεις του.

Τον Καθηγητή κ. Στυλιανό Δεληγεώργη για τις συμβουλές του και τη πολύτιμη βοήθεια που μου προσέφερε στη στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων.

Το μέλος ΕΕΔΙΠ κ. Δημήτριο Καλογιάννη για τη πολύτιμη καθοδήγηση και βοήθεια που μου προσέφερε στη διεξαγωγή των εργαστηριακών αναλύσεων.

Τη Διδάκτορα κα. Βασιλική Κοτσάμπαση για τη σημαντική συμβολή και τις συμβουλές της σε όλα τα στάδια εκπόνησης της παρούσας διατριβής.

Τέλος ευχαριστώ τον Διευθυντή του Εργαστηρίου στο πραγματοποιήθηκε η παρούσα μελέτη Καθηγητή κ. Ιωάννη Μενεγάτο καθώς και για τις συμβουλές και τις παρατηρήσεις του.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

A/A	ΜΕΤΑΒΟΛΙΚΕΣ ΟΡΜΟΝΕΣ & ΕΙΣΟΔΟΣ ΣΤΗΝ ΗΒΗ ΣΤΟ ΠΡΟΒΑΤΟ	Σελίδα
	ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ	3
	ΠΡΟΛΟΓΟΣ	9
	Περίληψη	10
	Abstract	12
1	ΕΙΣΑΓΩΓΙΚΟ ΜΕΡΟΣ – ΕΝΗΒΩΣΗ	14
1.1	Υποθάλαμος – Ενεργειακή Ομοιοστασία & Αναπαραγωγική λειτουργία	17
1.1.1	Η νευροενδοκρινολογία της εισόδου στην ήβη	18
1.1.2.	Ο χρόνος εισόδου στην ήβη	26
1.2	Ο τρόπος που παράγοντες του εσωτερικού και του εξωτερικού περιβάλλοντος προσδιορίζουν το χρόνο εισόδου στην ήβη	27
1.2.1	Σωματικό Βάρος	19
1.2.2	Φωτοπερίοδος	29
2	ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ- ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ: ΜΕΤΑΒΟΛΙΚΕΣ ΟΡΜΟΝΕΣ ΚΑΙ ΕΙΣΟΔΟΣ ΣΤΗΝ ΗΒΗ	33
2.1	Μεταβολικές Ορμόνες	34
2.2	Η Ινσουλίνη	36
2.2.1	Φυσιολογικός ρόλος της Ινσουλίνης	37
2.3	Ο λιπώδης ιστός ως ενδοκρινής αδένας	42
2.3.1	Λιποκίνες και Εντεροκίνες	43
2.3.2	Λιποκίνες – Η Λεπτίνη	44
2.3.2.1	Παραγωγή και ρύθμιση της έκκρισης της λεπτίνης	49
2.3.2.2	Υποδοχείς λεπτίνης και είσοδος της στον εγκέφαλο	52

2.3.2.3	Νευροενδοκρινικοί ρόλοι της λεπτίνης	56
2.3.2.4	Λεπτίνη και είσοδος στην ήβη	57
2.3.2.5	Θεωρίες που έχουν προταθεί σχετικά με τον τρόπο που η λεπτίνη μπορεί να επιδρά στην έκκριση της απελευθερωτικής ορμόνης των γοναδοτροπινών	60
2.4	Ορεξιογόνα και Ανορεξιογόνα Νευροπεπτίδια	61
2.5	Εντεροκίνες – Η Γκρελίνη	68
2.5.1	Παραγωγή και ρύθμιση έκκρισης της γκρελίνης	68
2.5.2	Δράσεις της γκρελίνης	69
2.5.3	Το πεπτίδιο YY ₃₋₃₆	72
2.5.4	Λεπτίνη και Γκρελίνη	74
2.6	Η κισπεπτίνη στην αναπαραγωγή	76
2.6.1	Ο ρόλος της κισπεπτίνης στον έλεγχο της έκκρισης των γοναδοτροπινών	81
2.6.2	Η κισπεπτίνη και ο μεταβολικός έλεγχος εισόδου στην ήβη	83
2.6.3	Η ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης της κισπεπτίνης μέσω του υποδοχέα α των οιστρογόνων και του συμπλόκου πρωτεϊνών SP	85
2.6.4	Ο ρόλος των αμινοπεπτιδίων RF στην εποχική αναπαραγωγή	90
2.7	Οι Παρόμοιοι με την ινσουλίνη αυξητικοί παράγοντες τάξεως 1	91
2.7.1	Η δράση των παρόμοιων με την ινσουλίνη αυξητικών παραγόντων τάξεως 1 στον εγκέφαλο ως ρυθμιστών της αναπαραγωγικής νευροενδοκρινικής λειτουργίας	93
2.7.2	Κεντρικοί και Περιφερικοί παρόμοιοι με την ινσουλίνη αυξητικοί παράγοντες τάξεως 1	94
2.7.2.1	Περιφερικοί παρόμοιοι με την ινσουλίνη αυξητικοί παράγοντες τάξεως 1	95
2.7.2.2	Κεντρικοί παρόμοιοι με την ινσουλίνη αυξητικοί	96

	παράγοντες τάξεως 1	
2.7.3	Ρύθμιση των αναπαραγωγικών νευροενδοκρινικών λειτουργιών από τους παρόμοιους με την ινσουλίνη αυξητικούς παράγοντες τάξεως 1	96
2.7.3.1	Δράση των παρόμοιων με την ινσουλίνη αυξητικών παραγόντων τάξεως 1 στους νευρώνες της απελευθερωτικής ορμόνης των γοναδοτρόπων ορμονών	96
2.7.3.2	Παρόμοιοι με την ινσουλίνη αυξητικοί παράγοντες τάξεως 1 και Γοναδοτροπίνες	99
2.7.3.3	Επίδραση των παρόμοιων με την ινσουλίνη αυξητικών παραγόντων τάξεως 1 στην ενήβωση	100
2.7.4	Αλληλεπιδράσεις μεταξύ των παρόμοιων με την ινσουλίνη αυξητικών παραγόντων τάξεως 1 και των οιστρογόνων	102
2.7.5	Θεωρίες που έχουν διατυπωθεί για τους ρόλους που διαδραματίζουν οι παρόμοιοι με την ινσουλίνη αυξητικοί παράγοντες τάξεως 1 στην αναπαραγωγή	104
2.7.6.	Συσχέτιση ανάμεσα στην αντίσταση στην ινσουλίνη κατά την ενήβωση και στον άξονα της αυξητικής ορμόνης και των παρόμοιων με την ινσουλίνη αυξητικών παραγόντων τάξεως 1	106
2.8	Ορμόνες του Θυρεοειδούς αδένα: Θυροξίνη και Τριωδοθυρονίνη	109
2.8.1	Αλληλεπιδράσεις διατροφής και ορμονών του θυρεοειδούς αδένα	113
2.8.2	Φυσιολογικός ρόλος της τριωδοθυρονίνης στην αναπαραγωγή	114
2.8.3	Η ορμονική ρύθμιση του θυρεοειδούς αδένα στην εποχική αναπαραγωγή	117
2.9	Αλληλεπιδράσεις λεπτίνης με ινσουλίνη, αυξητικής ορμόνης – παρόμοιων με την ινσουλίνη αυξητικών	121

	παραγόντων τάξεως 1, ορμονών θυροειδούς αδένα	
2.9.1	Λεπτίνη και Ινσουλίνη	121
2.9.2	Λεπτίνη και Παρόμοιοι με την Ινσουλίνη αυξητικοί παράγοντες τάξεως 1	122
2.9.3	Λεπτίνη και ορμόνες του θυροειδούς αδένα	123
2.9.4	Λεπτίνη και αυξητική ορμόνη	124
3	ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟ ΜΕΡΟΣ: Υπολογισμός μεταβολικών ορμονών στην περί την ήβη περίοδο	125
3	ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟ ΜΕΡΟΣ	125
3.1	ΣΚΟΠΟΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ	126
3.2	ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	126
3.2.1	Αρχές των μεθόδων που χρησιμοποιήθηκαν	129
3.2.2	Για τον υπολογισμό της τεστοστερόνης και της προγεστερόνης	129
3.2.3	Για τον υπολογισμό της ινσουλίνης και της λεπτίνης	130
3.2.4	Για τον υπολογισμό της τριωδοθυρονίνης	130
3.2.5	Για τον υπολογισμό των παρόμοιων με την ινσουλίνη αυξητικών παραγόντων τάξεως 1	130
3.2.6	Τροποποιήσεις που εφαρμόστηκαν	131
3.3	ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ	131
3.4	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΑΝΑΛΥΣΕΩΝ	133
3.4.1	Συσχετίσεις αρσενικών αμνών	140
3.4.2	Συσχετίσεις θηλυκών αμνών	145
4	ΣΥΖΗΤΗΣΗ – ΣΧΟΛΙΑΣΜΟΣ	148
5	ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	165
6	ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ	168

Πρόλογος

Η έναρξη της ήβης είναι ένα σύνθετο φαινόμενο που εξαρτάται από γενετικούς και περιβαλλοντικούς παράγοντες. Αν και πολλά επιδημιολογικά και πειραματικά δεδομένα έχουν καθιερώσει τη στενή σχέση μεταξύ ενεργειακής κατάστασης και λειτουργίας του αναπαραγωγικού άξονα, οι μηχανισμοί μέσω των οποίων ελέγχεται η έναρξη της ήβης δεν έχουν αποσαφηνιστεί. Μια σειρά από μεταβολίτες και μεταβολικές ορμόνες θεωρούνται ως πιθανοί μεσολαβητές, που συνδέουν την ενεργειακή κατάσταση του ζώου με την έναρξη της ήβης και τη λειτουργία της αναπαραγωγής. Ιδιαίτερα μετά την ανακάλυψη της λεπτίνης, πολλές μελέτες έχουν γίνει προκειμένου να διευκρινιστεί αν και κατά πόσο η λεπτίνη αποτελεί κρίσιμο μεταβολικό παράγοντα για την έναρξη της ήβης με αντικρουόμενα όμως αποτελέσματα, ιδιαίτερα στα μικρά μηρυκαστικά.

Σκοπός αυτής της μελέτης είναι η διερεύνηση των συγκεντρώσεων των μεταβολικών ορμονών λεπτίνης, ινσουλίνης, τριώδοθυρονίνης (T3) και των παρόμοιων με την ινσουλίνη αυξητικών παραγόντων τάξεως 1 (IGF-1) κατά την περί την ήβη περίοδο και να καθοριστούν οι παράγοντες που δρουν ως μεσολαβητές μεταξύ της ενεργειακής κατάστασης και της έναρξης της ήβης.

Χρησιμοποιήθηκαν επτά αρσενικοί και έξι θηλυκοί αμνοί φυλής Χίου, που διατράφηκαν ομαδικά κατά βούληση. Από την ηλικία των είκοσι εβδομάδων και ύστερα δείγματα αίματος συλλέγονταν δύο φορές την εβδομάδα μέχρι και την τριακοστή εβδομάδα και εν συνεχεία μία φορά μέχρι και την σαρακοστή εβδομάδα της ηλικίας τους. Στα δείγματα αίματος προσδιορίστηκαν οι ορμόνες λεπτίνη, ινσουλίνη, τριώδοθυρονίνη και ο παρόμοιος με την ινσουλίνη αυξητικός παράγοντας τάξεως-1. Επίσης, προσδιορίστηκε η ημερομηνία εισόδου στην ήβη κάθε ζώου με τον υπολογισμό της συγκεντρώσεως τεστοστερόνης για τους αρσενικούς αμνούς και της προγεστερόνης για τους θηλυκούς αμνούς.

ΜΕΤΑΒΟΛΙΚΕΣ ΟΡΜΟΝΕΣ ΚΑΙ ΕΙΣΟΔΟΣ ΣΤΗΝ ΗΒΗ ΣΤΟ ΠΡΟΒΑΤΟ

ΑΛΕΞΑΝΔΡΟΣ ΠΑΖΑΛΟΣ

*Τμήμα Ζωικής Επιστήμης και Υδατοκαλλιεργειών, Εργαστήριο Ανατομίας και
Φυσιολογίας, Ιερά Οδός 75, Αθήνα, 118 55, email:shad@aua.gr*

Περίληψη

Σκοπός της μελέτης, ήταν η διερεύνηση των μεταβολών των συγκεντρώσεων ορισμένων μεταβολικών ορμονών και ιδιαίτερα της λεπτίνης κατά την περί την ήβη περίοδο και ο καθορισμός του ρόλου τους ως μεσολαβητών μεταξύ της ενεργειακής κατάστασης και της έναρξης της ήβης στο πρόβατο. Χρησιμοποιήθηκαν 7 αρσενικοί και 6 θηλυκοί αμνοί φυλής Χίου οι οποίοι διατρέφονταν κατά βούληση. Πραγματοποιήθηκαν ζυγίσεις και αιμοληψίες εβδομαδιαίως από την ηλικία των 105 ημερών μέχρι την ηλικία των 300 ημερών. Η είσοδος στην ήβη προσδιορίστηκε από τα επίπεδα της τεστοστερόνης και προγεστερόνης για τους αρσενικούς και θηλυκούς αμνούς αντίστοιχα, σε δείγματα αίματος που ελήφθησαν δύο φορές την εβδομάδα από την ηλικία των 5 μηνών. Ως έναρξη της ήβης ορίστηκε η πρώτη αύξηση της συγκέντρωσης της τεστοστερόνης ή προγεστερόνης ≥ 1 ng/ml, που ακολουθήθηκε από τουλάχιστον δύο συνεχόμενες υψηλές τιμές και ονομάστηκε ημέρα μηδέν. Στα δείγματα του ορού προσδιορίστηκαν οι συγκεντρώσεις της λεπτίνης, της ινσουλίνης, της τριωδοθυρονίνης και του παρόμοιου με την ινσουλίνη αυξητικού παράγοντα τάξεως 1 (IGF-1) με τη μέθοδο της ραδιοανοσοδοκιμασίας (RIA). Για τη στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων εφαρμόστηκε η ανάλυση παραλλακτικότητας και η εκτίμηση των συσχετίσεων έγινε με τη μέθοδο Pearson. Στους αρσενικούς αμνούς η λεπτίνη σημείωσε αύξηση 30 μέρες πριν μέχρι 45 μέρες μετά την ημέρα μηδέν και στη συνέχεια πτώση των επιπέδων. Η ινσουλίνη σημείωσε αύξηση 60 μέρες πριν και πτώση 45 μέρες μετά την ημέρα μηδέν. Ο IGF-1 σημείωσε αύξηση 30 μέρες πριν και μείωση 75 μέρες μετά την ημέρα μηδέν. Η T3 σημείωσε αύξηση και αιχμή 30 μέρες και μείωση 15 μέρες πριν την ημέρα μηδέν.

Στους θηλυκούς αμνούς η λεπτίνη σημείωσε αύξηση 30 μέρες πριν και διατηρήθηκε στα ίδια επίπεδα μετά την ημέρα μηδέν μέχρι το τέλος του πειραματισμού.

Η ινσουλίνη σημείωσε αύξηση 45 μέρες πριν και πτώση 90 μέρες μετά την ημέρα μηδέν. Ο IGF-1 σημείωσε αύξηση την ημέρα μηδέν και μείωση 75 μέρες μετά. Η T3 σημείωσε αύξηση 60 μέρες πριν και 30 μέρες μετά την ημέρα μηδέν και μείωση 90 μέρες μετά την ημέρα μηδέν. Πριν την είσοδο στην ήβη στα αρσενικά παρατηρήθηκαν θετικές συσχετίσεις ανάμεσα στα ζεύγη ορμονών, λεπτίνη – ινσουλίνη, λεπτίνη – IGF-1, ινσουλίνη – IGF-1, ινσουλίνη-T3 και T3-IGF-1 και στα θηλυκά, ανάμεσα στα ζεύγη ορμονών, λεπτίνη- ινσουλίνη. Μετά την είσοδο στην ήβη, παρέμειναν στα αρσενικά οι θετικές συσχετίσεις ανάμεσα στην λεπτίνη και στην ινσουλίνη και στη λεπτίνη και στα IGF-1 ενώ στα θηλυκά έπαψαν οι συσχετίσεις ανάμεσα στις μεταβολικές ορμόνες που μελετήθηκαν.

Λέξεις κλειδιά Ενήβωση, Μεταβολικές ορμόνες, λεπτίνη, ινσουλίνη, τριωδοθυρονίνη, παρόμοιοι με την ινσουλίνη αυξητικοί παράγοντες τάξεως – 1

ABSTRACT

The aim of the present study was to characterize the changes in certain metabolic hormones concentration and particular in leptin during the peripubertal period in order to determine their role as possible mediators between the energy status and the onset of puberty in sheep. Seven male and six female lambs of the Chios breed were used. All animals were fed at libitum and body weight was recorded weekly. Starting from the age of 105 days blood samples were taken weekly until day 300 for hormone measurements. Testosterone and progesterone levels determined in blood samples taken twice a week from the age of five months onwards were used as indices of the time of onset of puberty in male and female animals, respectively. The onset of endocrine puberty defined as the first increase in plasma testosterone or progesterone concentration ≥ 1 ng/ml, that was followed by at least two more consecutive high values and was defined as day 0.

Serum concentrations of leptin, insulin, triiodothyronine (T₃) and IGF-1 were determined by radio immune assay (RIA).

In male lambs leptin levels increased from 30 days before up to 45 days after day 0. Insulin levels showed a significant increase 60 days before and a decrease 45 days after day 0, whereas IGF-1 concentration increased 30 days before and decreased 75 days after day 0. A peak for T₃ levels was also evident 30 days before day 0. In female lambs, leptin concentration increased remarkably 30 days before day 0 and remained elevated until the end of the experiment. Insulin concentration showed a significant increase 45 days before and a decrease 90 days after day 0, while IGF-1 levels increased significantly on day 0, but were reduced 75 days after day 0. During the prepubertal period a positive correlation was detected between leptin - insulin, leptin - IGF-1, insulin - IGF-1, insulin-T₃ and insulin-IGF-1. In females a significant positive correlation between leptin and insulin was also noted. After entering puberty, males continued to exhibit a positive correlation between leptin and insulin as well as between leptin and IGF-1, while in females these correlation were not more apparent.

1 Εισαγωγικό μέρος Ενήβωση

Ενήβωση ή είσοδος στην ήβη είναι η μετάβαση από το αναπαραγωγικά ανώριμο στάδιο σε εκείνο της πλήρους αναπαραγωγικής δραστηριότητας.

Η έναρξη της ήβης, είναι το στάδιο εκείνο της ανάπτυξης του οργανισμού, το οποίο χαρακτηρίζεται από την έναρξη παραγωγής και ελευθέρωσης γαμετών (σπερματοζωαρίων και ωαρίων), ικανών ώστε να επιτελεστεί η γονιμοποίηση και από την αμοιβαία επιθυμία και ικανότητα των δύο φύλων για συνεύρεση (Σμοκοβίτης 2004). Στην αρχαία ελληνική μυθολογία, η Ήβη ήταν κόρη του Δία και της Ήρας ή σύμφωνα με άλλες πηγές μόνο της Ήρας που τη γέννησε δίχως άνδρα. Ήταν η προσωποποίηση της θήλειας νεότητας και για το υπέροχο κάλλος της κατέστη οινόχοος των «θεών». (Εγκυκλοπαιδικό Λεξικό «Ηλίου»).

Η ενήβωση είναι μία συνεχιζόμενη φάση ανάπτυξης της λειτουργίας των γονάδων και της ανάπτυξης του άξονα υποθάλαμος – υπόφυση – γονάδες από την εμβρυϊκή κατάσταση μέχρι την πλήρη αναπαραγωγική ωρίμανση και γονιμότητα. Οι μεταβολές αυτές εμφανίζονται με τη διέγερση των γονάδων από τις γοναδοτροπίνες LH και FSH της υπόφυσης και την επερχόμενη αύξηση των παραγομένων στεροειδών από τις γονάδες. Η ενήβωση είναι μία συνέπεια της μείωσης της ευαισθησίας του κεντρικού νευρικού συστήματος που συνοδεύει τη φυσιολογική ωρίμανση. Ο χρόνος εισόδου σε αυτή τη μετάβαση καθορίζεται από σήματα που δρουν στον εγκέφαλο προκειμένου να αυξήσουν τη δραστηριότητα του άξονα υποθάλαμος – υπόφυση ο οποίος κινητοποιεί στις γονάδες την παραγωγή ώριμων γαμετών. (Wood & Foster, 1998)

Τα θηλυκά θηλαστικά γεννούν λίγους απογόνους στη διάρκεια της ζωής τους αλλά δαπανούν αξιοσημείωτη ενέργεια για την ανάπτυξή τους. Έτσι, το μεγαλύτερο μέρος της αναπαραγωγικής τους προσπάθειας καταβάλλεται μετά το ζευγάρισμα. Οι μεταβολικές απαιτήσεις της κυοφορίας και της γαλουχίας είναι σημαντικές και ενδέχεται να θέσουν σε κίνδυνο την επιβίωση του ζώου αν λάβουν χώρα σε ακατάλληλη χρονική περίοδο.

Ο ωοθυλακικός κύκλος τους είναι σχετικά σύντομος και χρειάζονται μερικές μόνο μέρες για την ολοκλήρωση της εξέλιξης των προωθυλακιορρηκτικών ωοθυλακίων. Με

άλλα λόγια, καθυστερείται η αναπαραγωγική ωρίμανση στο ανώριμο θηλυκό μέχρι οι συνθήκες να είναι οι ιδανικές. Μετά την ήβη, το ενήλικο θηλυκό, το οποίο διαβιεί σε φυσιολογικές συνθήκες, μπορεί να έχει λίγους γόνιμους κύκλους στη διάρκεια του έτους. Ο απώτερος σκοπός των φυσιολογικών μηχανισμών της αναπαραγωγής, είναι να γεννιούνται τα μικρά περίπου την άνοιξη, οπότε και υπάρχει άφθονη βλάστηση. (Bronson 1989)

Το αρσενικό αντίθετα, παράγει μεγάλο αριθμό απογόνων, αλλά δεν καταβάλλει πολλή ενέργεια για την επιβίωσή τους. Το μεγαλύτερο μέρος της ενέργειας του για την αναπαραγωγική διαδικασία δαπανάται πριν το ζευγάρωμα, κυρίως στον ανταγωνισμό για τα θηλυκά. Αν και οι ενεργειακές ανάγκες για τη παραγωγή των σπερματοζωαρίων και του σπερματικού υγρού είναι σχετικές μικρές, ο χρόνος που απαιτείται για τη σπερματογένεση διαρκεί από εβδομάδες έως μήνες εως ότου αυτή να ολοκληρωθεί. Το αρσενικό πλεονεκτεί στο ότι, παρόλες τις αντίξοες περιβαλλοντικές συνθήκες και παρά την ανεπαρκή διατροφή δεν αντιμετωπίζει πρόβλημα στην έναρξη και στη διατήρηση της σπερματογένεσης. (Bronson 1985, Oktavant, Thesis for the degree of Doctor of Philosophy. University de Paris, 1958).

Η διάρκεια της αναπαραγωγικής περιόδου του προβάτου ποικίλλει ανάλογα με τη φυλή και τη τοποθεσία και διαρκεί κατά μέσο όρο από τα μέσα του καλοκαιριού έως τα μέσα της ανοίξεως. Η ήβη μπορεί να εμφανιστεί μόνο κατά την αναπαραγωγική περίοδο.

Η είσοδος στην ήβη στα αρσενικά αρνιά αρχίζει περίπου είκοσι εβδομάδες πριν από τα θηλυκά. Οι αμνοί που γεννήθηκαν την άνοιξη αρχίζουν την αναπαραγωγική τους εξέλιξη στις δέκα εβδομάδες περίπου της ηλικίας τους, στο μέσο περίπου του καλοκαιριού με ένδειξη την έναρξη των κύκλων της σπερματογένεσης. Οι θηλυκοί αμνοί παραμένουν στην περί την ήβη περίοδο μέχρι το μέσο του φθινοπώρου όταν γίνεται η πρώτη ωοθυλακιορρηξία, στις τριάντα περίπου εβδομάδες της ηλικίας τους. (Oktavant 1958, Foster & Ryan 1979, Claypool & Foster 1990)

1.1. Υποθάλαμος – Ενεργειακή ομοιοστασία & Αναπαραγωγική λειτουργία

Ο υποθάλαμος (hypothalamus), περιλαμβάνει 1) τα πλάγια τοιχώματα της κάτω κυρίως μοίρας της τρίτης κοιλίας, που αντιστοιχούν στη πρόσθια ή υπεροπτική περιοχή του υποθαλάμου και 2) τους σχηματισμούς που αποτελούν το έδαφος της τρίτης κοιλίας, δηλαδή το φαιό φύμα και το μαστίο. Η πρόσθια ή υπεροπτική περιοχή του υποθαλάμου βρίσκεται πάνω από το οπτικό χίασμα και περιλαμβάνει σημαντικούς πυρήνες όπως ο υπεροπτικός και ο παρακοιλιακός πυρήνας. Η υπόφυση (hypophysis) είναι ένας ενδοκρινής αδένας που βρίσκεται στη βάση του εγκεφάλου και διακρίνεται στον πρόσθιο λοβό (αδενούπόφυση) με τη διάμεση μοίρα, και στον οπίσθιο λοβό (νευροϋπόφυση) στην οποία αποθηκεύονται νευροεκκρίματα προερχόμενα από τον υποθάλαμο. Κρέμεται από το φαιό φύμα μέσω του μίσχου της υπόφυσης, ενώ στηρίζεται στη βάση του κρανίου, εντός του τουρκικού επιπίου. Την κάψα αυτή διαμορφώνουν ο βόθρος της υπόφυσης που επαλείφεται από το πέταλο της σκληράς μήνιγγας και το εσωτερικό πέταλο της σκληρής μήνιγγας, που φέρεται οριζόντια αμέσως πάνω από τον αδένα σαν ένα διάφραγμα διάτρητο κέντρο, διά μέσου του οποίου περνά ο μίσχος της υπόφυσης. Οι απολήξεις των ιών των νευροενδοκρινικών κυττάρων ορισμένων πυρήνων του υποθαλάμου εκκρίνουν τις απελευθερωτικές ή τις ανασταλτικές ορμόνες των ορμονών του προσθίου λοβού της υπόφυσης στα αιμοφόρα αγγεία του πυλαίου συστήματος, που οδηγούν στο πρόσθιο λοβό της υπόφυσης. Κύριο χαρακτηριστικό είναι η ανεξάρτητη αιμάτωση του προσθίου και του οπισθίου λοβού. Η έκκριση των ορμονών του υποθαλάμου επηρεάζεται από τις ορμόνες των αδένων, οι οποίοι είναι στόχος των αντίστοιχων ορμονών του προσθίου λοβού της υπόφυσης. Αυτός ο μηχανισμός καλείται μηχανισμός παλίνδρομης ρύθμισης ή επανατροφοδότησης. (Μιχαήλ, 1997, Σμοκοβίτης, 2004). Ο υποθάλαμος είναι το κέντρο της ενοποίησης δύο καθοριστικών παραγόντων για την επιβίωση των ειδών, του ενεργειακού μεταβολισμού και της αναπαραγωγικής λειτουργίας. Αυτές οι διεργασίες στηρίζονται σε μία ευαίσθητη αλληλεπίδραση ανάμεσα σε πολύ ειδικευμένους υποπληθυσμούς νευρώνων που δρουν ως αισθητήρια για τα εισερχόμενα σήματα από

τη περιφέρεια, και ύστερα λαμβάνει χώρα ένας αυστηρός έλεγχος πάνω στο ενεργειακό ισοζύγιο και στην αναπαραγωγική δραστηριότητα.

Η αναπαραγωγή επηρεάζεται από ερεθίσματα εξωγενή που προέρχονται από το περιβάλλον και ενδογενή που προέρχονται από τον οργανισμό. Τα ερεθίσματα αυτά φτάνουν στον υποθάλαμο ο οποίος τα αξιοποιεί και παράγει τις κατάλληλες εκλυτικές ορμόνες με σκοπό την εξασφάλιση της επιβίωσης και της διαίωισης του είδους. (Μενεγάτος, 2002).

Η ενεργειακή ομοιοστασία είναι η διαδικασία μέσω της οποίας ανιχνεύονται οι καθημερινές διακυμάνσεις των ενεργειακών αποθεμάτων και διορθώνονται μέσα σε περιόδους εβδομάδων ή μηνών από προσαρμογές που συγχρονισμού της πρόσληψης τροφής και της δαπάνης ενέργειας. (Schwartz *et al.*, 2003). Αυτές οι προσαρμογές δημιουργούν σημαντική σταθερότητα στο ποσό της σωματικής ενέργειας που αποθηκεύεται ως λίπος. Η διατροφική συμπεριφορά είναι ένα αυστηρώς ρυθμιζόμενο φαινόμενο που στηρίζεται σε διάφορους παράγοντες οι οποίοι μεταδίδουν τη πληροφορία ή το σήμα των σωματικών ενεργειακών απαιτήσεων στον υποθάλαμο. (Schwartz *et al.*, 2000).

1.1.1. Η νευροενδοκρινολογία της εισόδου στην ήβη

Ενήβωση είναι η μεταβατική περίοδος της ζωής του ζώου κατά την οποία δημιουργούνται οι προϋποθέσεις και οι δυνατότητες αναπαραγωγής του. Πρόκειται για μια μακρά διαδικασία που αρχίζει αμέσως μετά την διαφοροποίηση του φύλου και αποπερατώνεται με την εμφάνιση του πρώτου έκδηλου οίστρου στις αμνάδες ή την εμφάνιση των πρώτων σπερματοζωαρίων στα σπερματικά σωληνάκια του όρχεως του νεαρού κριού.

Ήβη ονομάζεται η εμφάνιση του πρώτου οίστρου και των πρώτων σπερματοζωαρίων ενώ δεν ταυτίζεται με τη γενετήσια ωριμότητα. (Ρογδάκης, 2004)

Η απελευθερωτική ορμόνη των γοναδοτρόπων ορμονών (gonadotropin-releasing hormone, GnRH) του υποθαλάμου μέσω των αιμοφόρων αγγείων του υποφυσιαίου πυλαίου συστήματος διεγείρει την έκκριση των γοναδοτρόπων ορμονών από το πρόσθιο λοβό της υπόφυσης, της ωχρινοποιητικής (Luteinizing hormone, LH) για το

θηλυκό και διαμεσοκυτταροτρόπου (Interstitial cell-stimulating hormone, ICSH) για το αρσενικό, και της ωοθυλακιοτρόπου ορμόνης (Follicle – stimulating hormone, FSH).

Οι πυρήνες του υποθαλάμου που παράγουν και εκλύουν την GnRH ταξινομούνται σε δύο βασικές κατηγορίες: Στους πυρήνες του κυκλικού και στους πυρήνες του τονικού κέντρου του υποθαλάμου. Το κυκλικό κέντρο είναι υπεύθυνο για τη διεξαγωγή της προωθυλακιορρηκτικής κορυφής της LH και της FSH ενώ το τονικό κέντρο είναι υπεύθυνο για τη διεξαγωγή της τονικής έκλυσης των LH, FSH και τη διατήρηση του βασικού ρυθμού έκκρισής τους. Το κυκλικό κέντρο δραστηριοποιείται στα θηλυκά ζώα ενώ δεν λειτουργεί στα αρσενικά των ειδών που έχουν φυλετικά διαφοροποιημένο εγκέφαλο (υποθάλαμο), στα αρρενοποιημένα θηλυκά ή στα θηλυκά με κυστικές ωοθήκες.

Το κυκλικό κέντρο αποτελούν οι πυρήνες των περιοχών του προσθίου τμήματος του υποθαλάμου, δηλαδή η πρόσθια υποθαλαμική περιοχή, οι προοπτικοί και οι υπερχιασματικοί πυρήνες. Το τονικό κέντρο αποτελούν οι πυρήνες του τοξοειδή πυρήνα του υποθαλάμου, της μέσης προεξοχής και οι μεσοκοιλιακοί πυρήνες. (Μενεγάτος, 2002).

Στο αρσενικό, η FSH συνδέεται με υποδοχείς στα κύτταρα Sertoli του όρχη και η σπερματογένεση γίνεται στο σπερματικό επιθήλιο των σπερματικών σωληναρίων.

Η ICSH στα κύτταρα του Leydig διεγείρει τη παραγωγή τεστοστερόνης.

Στο θηλυκό, τα κύτταρα θήκης της ωοθήκης παράγουν με την επίδραση της LH ανδρογόνα τα οποία στη συνέχεια, με την επίδραση της FSH μετατρέπονται στη κοκκώδη στοιβάδα της ωοθήκης σε οιστρογόνα.

Ο έλεγχος της έκκρισης της LH-RH πραγματοποιείται με τα συστήματα της μακράς αγκύλης αρνητικής και θετικής παλίνδρομης ρύθμισης, με της βραχείας αγκύλης αρνητικής παλίνδρομης ρύθμισης και με το σύστημα της υπερβραχείας παλίνδρομης ρύθμισης. Η επίδραση του συστήματος της μακράς αγκύλης αρνητικής και θετικής παλίνδρομης ρύθμισης ασκείται από τα στεροειδή των γονάδων ενώ της βραχείας αγκύλης αρνητικής παλίνδρομης ρύθμισης ασκείται από τις γοναδοτροπίνες. Στο σύστημα της υπερβραχείας παλίνδρομης ρύθμισης η ίδια η LH-RH προκαλεί αρνητική παλίνδρομη ρύθμιση στους νευρώνες που την παράγουν. Κάθε μεταβολή της έκκρισης της LH-RH ακολουθεί ανάλογη μεταβολή στις γοναδοτροπίνες. Στο επίπεδο όμως του

υποθαλάμου η έκκριση των γοναδοτροπινών επηρεάζεται και από την ορμόνη ωκυτοκίνη μέσω του πυλαίου αγγειακού συστήματος ενώ η έκκριση της FSH επηρεάζεται από την ορμόνη ανασταλτίνη. (Μενεγάτος, 2002).

Σήμερα θεωρείται ότι η έκκριση της GnRH κατά την ενήβωση ελέγχεται από δύο ομάδες γονιδίων, μία ομάδα που δρα επικουρικά και μία ομάδα που κυβερνά τη διαδικασία της ήβης σε ένα υψηλότερο ιεραρχικό επίπεδο, επίπεδο μεταγραφικού ελέγχου. (Ojeda *et al.*, 2006)

Παρόλο που η είσοδος στην ήβη ελέγχεται κατά κύριο λόγο γενετικά, ο άξονας υποθάλαμος – υπόφυση-γονάδες είναι πολύ ευαίσθητος σε ποικίλες ενδογενείς και περιβαντολλογικές επιδράσεις, οι οποίες αλληλεπιδρούν με κεντρικούς ρυθμιστές προκειμένου να καθορίσουν το χρόνο εισόδου στην ήβη (Ojeda *et al.*, 2006).

Σε αυτούς τους παράγοντες περιλαμβάνονται η ενεργειακή και η μεταβολική κατάσταση του οργανισμού. Αυτοί οι παράγοντες αφορούν τα ενεργειακά αποθέματα και την τρέχουσα διατροφική κατάσταση του ζώου προκειμένου να κριθεί αν αυτό μπορεί να εισέλθει στο ενεργοβόρο έργο της αναπαραγωγής και ειδικότερα για το θηλυκό, αν είναι σε θέση να φέρει επιτυχώς εις πέρας μια ενδεχόμενη κυοφορία.

Αυτή η κρίσιμη πληροφορία μεταφέρεται στον εγκέφαλο κυρίως, μέσω περιφερικών ορμονών που προέρχονται από τον λιπώδη ιστό, το γαστρεντερικό σωλήνα και το πάγκρεας, όπως επίσης και από διατροφικούς και μεταβολικούς παράγοντες.

Αξιοσημείωτα χαρακτηριστικά του συστήματος της GnRH είναι ότι δεν εξελίσσεται στη χώρα του υποθαλάμου όπου βρίσκεται σε ώριμη ηλικία (Tobet *et al.*, 2001) καθώς και ότι εκκριτικό του σύστημα δεν λειτουργεί πλήρως με την ολοκλήρωση της ανάπτυξης του αλλά με την είσοδο στην ήβη (Ebling, 2005).

Ο πληθυσμός νευρώνων της GnRH βρίσκεται στην εμβρυϊκή περίοδο στο διάμεσο οσφρητικό πλακούντα που είναι εκτός του κεντρικού νευρικού συστήματος. Από τη θέση αυτή τα κύτταρα μεταναστεύουν κατά μήκος του ινορρινικού και του τελικού νεύρου στον πρόσθιο εγκέφαλο κατά τη πρώιμη εμβρυογένεση. Στο πρόβατο η οσφρητική πλάκα σχηματίζεται στο διάστημα από την 22^η έως την 26^η ημέρα της κυοφορίας και η μετανάστευση των νευρώνων της GnRH αρχίζει κατά την 35^η ημέρα της ηλικίας του εμβρύου. Οι νευρώνες αυτοί σταδιακά εισβάλλουν στον εγκέφαλο και μετακινούνται στην προοπτική περιοχή του υποθαλάμου. Οι νευρώνες εμφανίζουν τη

χαρακτηριστική ενήλικη μορφολογία τους κατά την 85^η ημέρα της κυοφορίας χωρίς πρόδηλα χαρακτηριστικά φυλοδιαφοροποίησης. (Ρογδάκης, 2004).

Το φαινόμενο μη ενεργοποίησης του εκκριτικού συστήματος της GnRH με την ολοκλήρωση της ανάπτυξης του αλλά με την αναμονή της ενεργοποίησης με την είσοδο στην ήβη οδήγησε στη πρόταση της θεωρίας *εμπόδισης της γονιδιακής έκφρασης του γονιδίου της GnRH*.(Ρογδάκης, 2004)

Υπάρχουν όμως κάποιες ενδείξεις, ότι μεταβολές στο επίπεδο της γονιδιακής έκφρασης της GnRH δρουν περιοριστικά στο χρόνο εισόδου στην ήβη.

Το κοινό στοιχείο σε πολλές έρευνες που έγιναν σε θηλαστικά είναι ότι η αύξηση της γονιδιακής έκφρασης και μετάφρασης της GnRH, προηγείται της αυξήσεως της εκκρίσεως των γοναδοτροπινών, που οδηγούν στην ωρίμανση των γονάδων.

(Plant 2001).

Έχει απασχολήσει την επιστημονική κοινότητα αν η πρωταρχική αιτία εισόδου στην ήβη είναι μια μείωση στη κεντρική αναστολή του νευρικού συστήματος στην έκκριση των γοναδοτρόπων ορμονών (Σμοκοβίτης, 2004) ή αν πρόκειται για μια ενεργοποίηση των διεγερτικών εισαγόμενων σημάτων στους νευρώνες της GnRH.

(Ojeda *et al.*, 2002).

Η ευαισθησία των τονικών κέντρων στη δράση των στεροειδών διαφέρει στις διάφορες φάσεις της αναπαραγωγικής ζωής του ζώου. Πριν την ήβη, ο βαθμός της ευαισθησίας είναι υψηλός και ως εκ τούτου μικρή ποσότητα στεροειδών, πχ οιστρογόνων, ασκεί έντονη αρνητική παλίνδρομη ρύθμιση στην έκκριση των γοναδοτροπινών. Με τη πάροδο του χρόνου καθώς μειώνεται η ευαισθησία, απαιτούνται υψηλότερα επίπεδα οιστρογόνων για να προκληθεί το ίδιο αποτέλεσμα αρνητικής παλίνδρομης ρύθμισης, και έτσι η τονική έκκριση γίνεται συχνότερη αλλά μικρότερου εύρους με συνέπεια την αύξηση σε μέγεθος των ωοθυλακίων και τη δυνατότητα σε ορισμένα να φτάσουν στο μέγιστο του μεγέθους τους.

Τα οιστρογόνα που μέχρι τότε ασκούσαν αρνητική παλίνδρομη ρύθμιση στα κέντρα τονικής έκλυσης, ασκούν στα θηλυκά, θετική παλίνδρομη ρύθμιση στο κυκλικό κέντρο που μέχρι τότε υπολειτουργούσε, με αποτέλεσμα την έκλυση LH-RH σε μεγάλες ποσότητες και κατ επέκταση την προωθυλακιορρηκτική αιχμή της LH που προκαλεί την ωοθυλακιορρηξία(24-26 ώρες αργότερα). Το ωχρό σωματίο που θα δημιουργηθεί

τροφοδοτείται από την έκκριση της LH κατά ώσεις που οφείλονται στην κατά ώσεις έκκριση της LH-RH από τα τονικά κέντρα. Το ωχρό σωματίο παράγει προγεστερόνη η οποία αναλαμβάνει την αρνητική παλίνδρομη ρύθμιση. Την πτώση της προγεστερόνης από την λύση του ωχρού σωματίου από τη προσταγλαδίνη F2a ακολουθεί νέα ωοθυλακική φάση με αποτέλεσμα τα οιστρογόνα των αναπτυσσόμενων ωοθυλακίων να προκαλέσουν νέα θετική παλίνδρομη ρύθμιση και οίστρο. Για την εμφάνιση του οίστρου, εκτός της ευαισθητοποίησης από τη προγεστερόνη είναι απαραίτητη και ποσότητα ανδροστενεδιόνης. (Μενεγάτος, 2002)

Τα πρόσφατα ευρήματα ότι οι μεταλλάξεις του GPR54, που είναι ο υποδοχέας της κισπεπτίνης, προϊόντος του γονιδίου KiSS-1, προκαλούν υποθαλαμικό υπογοναδισμό (de Roux N *et al.*, 2003, Seminara *et al.*, 2003) συνηγορούν υπέρ της δεύτερης απόψεως.

Και αυτό γιατί, η μεταβίβαση του μηνύματος του GPR54 συνδέεται με την ενεργοποίηση της απελευθέρωσης της GnRH παρά με την αναστολή της έκκρισής της. (Navvaro *et al.*, 2004, Shahab *et al.*, 2004).

Η ενεργοποίηση του άξονα των γοναδοτροπινών κατά την ενήβωση προωθείται από την αύξηση της νευροενδοκρινικής δραστηριότητας της γεννήτριας παλμών του υποθαλαμικού GnRH. Η προοδευτική ενεργοποίηση των νευρώνων της GnRH κατά την μετάβαση στην ήβη ακολουθείται από τη μείωση της αντίστασης στα ανασταλτικά κεντρομόλα σήματα και αύξηση της διέγερσης των εισαγόμενων σημάτων.

Στους σπουδαιότερους ρυθμιστές στο μετασυναπτικό έλεγχο της γεννήτριας παλμών GnRH κατά την ήβη, διεγερτικών ή ανασταλτικών ανήκουν οι παρακάτω: Το γ αμινοβουτυρικό οξύ (GABA) και τα ενδογενή οπιούχα πεπτίδια, ως κύρια ανασταλτικά σήματα, καθώς η νοραδρενεργική και ο γλουταμεργικός νευρομεταφορέας ως διεγερτικά σήματα.

Επίσης, έχει προταθεί η εμπλοκή διαφόρων νευρομεταβιβαστών και νευροπεπτιδίων (όπως το νευροπεπτίδιο Y) στον νευροενδοκρινικό έλεγχο της ενήβωσης.

Το δίκτυο που καθορίζει την έκκριση της GnRH δεν συντίθεται μόνο από μετασυναπτικά εισαγόμενα σήματα αλλά και από σήματα από τα κύτταρα της γλοίας στους νευρώνες, τα οποία περιλαμβάνουν αυξητικούς παράγοντες (όπως ο μεταμορφωτικός αυξητικός παράγοντας α και νευρογλοία και ενδεχομένως

γλουταμεργικά εισαγόμενα μηνύματα). Μετασυναπτικά και από γλοία σήματα σε νευρώνες βρίσκονται υπό τον έλεγχο πληθώρας μεταγραφικών παραγόντων των οποίων η έκφραση συντονίζεται κατά τη μετάβαση στην ήβη, με ένα διακριτό ανώτερο επίπεδο της ρύθμισης, υπεύθυνο για τον έλεγχο της έκκρισης των υποτασσόμενων σημάτων από κύτταρο σε κύτταρο.

Η πλαστικότητα της νευρογλοίας στον τοξοειδή πυρήνα ίσως να ενοποιεί τη δράση των διαφορετικών ορμονικών σημάτων συμπεριλαμβανομένων της οιστραδιόλης και της λεπτίνης, οι οποίες ενδεχομένως συγχρονίζουν την απελευθέρωση της GnRH με τις υπόλοιπες φυσιολογικές μεταβολές κατά την είσοδο στην ήβη. Στον τοξοειδή πυρήνα του υποθαλάμου επίμυ που έχει μελετηθεί εκτενώς έχει παρατηρηθεί μια παράλληλη ωρίμανση των νευρωνικών μεμβρανών, των κυττάρων γλοίας και των συνάψεων κατά τη διάρκεια της προηβικής μέχρι την περί την ήβη περίοδο. (Matsumoto & Arai 1976, 1977, Perez *et al.*, 1990, Chowen *et al.*, 1995, Garcia- Segura *et al.*, 1995b, Mong & Blustein 2006).

Η ωρίμανση αυτή παράγει μια ιδιότυπη οργάνωση των συνάψεων και των κυττάρων γλοίας στα δύο φύλα τέτοια που, μετά την ήβη, τα θηλυκά αλλά όχι τα αρσενικά, να ανταποκρίνονται στις νευροπλαστικές δράσεις της 17-β οιστραδιόλης. (Olmos *et al.*, 1989, Garcia- Segura *et al.*, 1994, Horvath *et al.*, 1997, Csakvari *et al.*, 2007).

Αυτές οι φυλετικές διαφοροποιήσεις στους αρσενικούς επίμυες προάγονται από τη τεστοστερόνη. Τεστοστερόνη κατά τη περιγεννητική περίοδο αυξάνει την έκφραση της σκελετοκυτταρικής πρωτεΐνης των αστροκυττάρων η οποία ρυθμίζει τη μορφολογία αυτών των κυττάρων, την πρωτεΐνη glial fibrillary acidic (GFAP), αυξάνει την ανάπτυξη των αστροκυτταρικών διαδικασιών και την επέκταση των μεμβρανών ώστε να καλυφθούν από αυτές τις διαδικασίες. Ταυτόχρονα με αυτές τις αλλαγές στην μορφολογία των αστροκυττάρων λαμβάνει χώρα και μια έντονη μείωση στη πυκνότητα των δενδριτών και των συνάψεων στον τοξοειδή πυρήνα του υποθαλάμου των αρσενικών. (Garcia- Segura *et al.*, 1994, 1995b, Mong *et al.*, 1996, 1999, Mong & McCarthy 1999).

Μελέτες σε έμβρυα προβάτου αποκάλυψαν ότι η LH απελευθερώνεται με παλμικό τρόπο κατά τη διάρκεια του δεύτερου μισού της κυοφορίας, και η συχνότητα των παλμών αυξάνεται αν απομακρυνθεί ο εμβρυϊκός όρχης (Mesiano *et al.*, 1991).

Η επεισοδιακή απελευθέρωση της LH φανερώνει την παλμική απελευθέρωση GnRH από τον εμβρυϊκό υποθάλαμο. Η ενεργοποίηση της έκκρισης GnRH νωρίς στη ζωή είναι σημαντική για την ανάπτυξη των όρχεων, γεγονός που αποδεικνύεται από το ότι φαρμακολογική αναστολή της δράσης της GnRH σε έμβρυα αμνών οδήγησε σε μείωση του όγκου των όρχεων στη μετέπειτα ζωή τους. (Plant 1985, Mann & Fraser 1996). Αυτές οι πρώιμες περιόδους ενεργοποίησης του εκκριτικού συστήματος της GnRH μπορεί να είναι σημαντικές για την ανδροποίηση του εγκεφάλου, την ανάπτυξη της κοινωνικής συμπεριφοράς που σχετίζεται με την αναπαραγωγή, καθώς και ελέγχου του πολλαπλασιασμού των κυττάρων Sertoli στους όρχεις.

Σε θηλυκά πρωτεύοντα φαίνεται ότι στην προηβική περίοδο η δραστηριότητα του εκκριτικού συστήματος της GnRH είναι σε χαμηλά επίπεδα. (Pohl *et al.*, 1995).

Σε γενικές γραμμές, η ταχύτητα της ανάπτυξης και εξέλιξης των θηλαστικών με μικρή διάρκεια ζωής, όπως για παράδειγμα τα ποντίκια και οι επίμυες, είναι τέτοια που η αρχική εμβρυϊκή / προηβική περίοδος ενεργοποίησης είναι συνεχής και δεν διακρίνεται από την περί την ήβη περίοδο ενεργοποίησης του άξονα υποθάλαμος- υπόφυση – γονάδες, και έτσι δεν υπάρχει νεανική παύση όπως συμβαίνει στα μεγαλύτερα θηλαστικά με μεγαλύτερη διάρκεια ζωής. (Ebling, 2005)

Παρόλα αυτά, μερικά μικρά θηλαστικά μπορούν να παρουσιάσουν περιόδους προηβικής αναπαραγωγικής παύσης, κυρίως όταν η επαναδραστηριοποίηση της έκκρισης της GnRH περιορίζεται χρονικά από περιβαλλοντικούς παράγοντες όπως οι μεταβολές στη φωτοπερίοδο.

(Ebling 1994, Ebling & Cronin 1998, Garcia – Segura *et al.*, 1995b) .

Εφόσον η συνθετική ικανότητα των νευρώνων GnRH δεν είναι περιοριστική για τη διαδικασία εισόδου στην ήβη και μια περίοδος ενδογενούς εκκρίσεως GnRH έχει συμβεί νωρίτερα κατά την ανάπτυξη, η ενήβωση μπορεί να θεωρηθεί ως η επαναδραστηριοποίηση της εκκρίσεως της GnRH.

Για αυτό το θέμα αναπτύχθηκε η λεγόμενη *γοναδοστατική* υπόθεση. Σύμφωνα με αυτήν, μικρά επίπεδα ανδρογόνων ή οιστρογόνων απελευθερώνονται στην περί την ήβη περίοδο από τους όρχεις και τις ωοθήκες αντίστοιχα, ασκώντας επίδραση αρνητικής παλίνδρομης ρύθμισης η οποία αναστέλλει την απελευθέρωση GnRH πριν την είσοδο στην ήβη.

Έτσι η μείωση της έκκρισης GnRH στο νεαρό πρωτεύον και η πρωταρχική ενεργοποίηση της έκκρισης GnRH στη περίοδο της προηβικής ηλικίας είναι διαδικασίες ανεξάρτητες από την αρνητική παλίνδρομη ρύθμιση των στεροειδών των γονάδων. Στη ηλικία της εισόδου στην ήβη λαμβάνει χώρα μία προοδευτική μείωση στην ευαισθησία των δράσεων της παλίνδρομης ρύθμισης από τα ανδρογόνα και τα οιστρογόνα.

Η υψηλή ευαισθησία κατά την έναρξη της ενήβωσης αιτιολογεί γιατί οι πρώτοι οιστρικοί κύκλοι είναι συνήθως δίχως ωοθυλακιορρηξία ή περιέχουν μικρές ωχρινικές φάσεις ή ανεπαρκή λειτουργία του ωχρού σωματίου.

(Rapisarda *et al.*, 1983, Foster 1994).

Η επαναδραστηριοποίηση περί την ήβη περίοδο ως ηλεκτρική και νευροχημική διέγερση του υποθαλάμου έχει αποδειχτεί ότι οδηγεί σε απελευθέρωση LH με την επίδραση της GnRH.

Πριν την ήβη ο εγκέφαλος που ελέγχει την έκκριση της LH μέσω της GnRH είναι πολύ ευαίσθητος στην αρνητική παλίνδρομη ρύθμιση των στεροειδών που παράγουν οι γονάδες. Έτσι η συχνότητα των παλμών της GnRH παραμένει σε χαμηλά επίπεδα.

Κατά την ήβη, η ανταπόκριση των μηνυμάτων από το εσωτερικό περιβάλλον (ανάπτυξη) και από το εξωτερικό περιβάλλον (φωτοπερίοδο) καθιστούν τον υποθάλαμο λιγότερο ευαίσθητο στην αρνητική παλίνδρομη ρύθμιση των στεροειδών των γονάδων. Η συχνότητα παλμών GnRH αυξάνεται οδηγώντας σε αύξηση την έκκριση LH η οποία οδηγεί στην ανάπτυξη των ωοθυλακίων των θηλυκών και στην σπερματογένεση των αρσενικών.

Ειδικότερα για τα θηλυκά, οι αυξημένες συγκεντρώσεις της κυκλοφορούσης στο αίμα οιστραδιόλης στη περί την ήβη περίοδο, προκαλούν την πρώτη προωοθυλακιορρηκτική αιχμή της LH. Στα αρσενικά ανάλογη αιχμή της LH δεν συμβαίνει ή είναι αφανής επειδή σε αυτά η οιστραδιόλη δεν μπορεί να προκαλέσει αιχμή στην έκκριση της GnRH.

Μία ενδιαφέρουσα υπόθεση για την ερμηνεία της δράσεως των στεροειδών των γονάδων στην αναπαραγωγική διαφοροποίηση του κεντρικού νευρικού συστήματος αναφέρει ότι τα στεροειδή έχουν δράσεις που προωθούν την ανάπτυξη των νευρώνων συμπεριλαμβανομένων και της δημιουργίας συνάψεων.

Η οιστραδιόλη διεγείρει τη δημιουργία συνάψεων σε οριακές περιοχές του εγκεφάλου των επίμυων και οι νευρώνες της GnRH των θηλυκών επιμύων λαμβάνουν τουλάχιστον τα διπλάσια συναπτικά μηνύματα από εκείνους των αρσενικών επίμυων.

Οι νευρώνες της GnRH στην προβατίνα στη διάρκεια της αναπαραγωγικής περιόδου έχουν πολύ μεγαλύτερο αριθμό συνάψεων συγκριτικά με τις προβατίνες που βρίσκονται στην άνοιστρον περίοδο.

Στο πρόβατο, υπάρχει μια φυλετική διαφορά στη μετάδοση μηνυμάτων από τις συνάψεις προς τους νευρώνες της GnRH η οποία είναι υπό την επίδραση των εμβρυϊκών στεροειδών. Οι νευρώνες GnRH από γοναδοεκτομημένα θηλυκά στην περί την ήβη περίοδο, δέχονται περίπου διπλάσιες συνάψεις από εκείνες των αμνών ή των ανδρογονοποιημένων θηλυκών.

Επειδή οι νευρώνες της GnRH δεν έχουν υποδοχείς για τα στεροειδή των γονάδων, θεωρείται ότι τα στεροειδή δρουν στους νευρώνες αυτούς με κεντρομόλο κατεύθυνση προωθώντας τη σύναψη (Wood and Foster, 1998).

1.1.2. Ο χρόνος εισόδου στην ήβη

Η είσοδος στην ήβη και η μετά την ήβη ανάπτυξη της αναπαραγωγικής λειτουργίας υπόκεινται σε ποικίλα ερεθίσματα προερχόμενα τόσο από το εσωτερικό όσο και από το εξωτερικό περιβάλλον. Πληροφορίες για την ανάπτυξη, τη σωματική κατάσταση, τη διατροφή, το στρες, μεταβολές στη φωτοπερίοδο, τον νυχθημερήσιο ρυθμό, τα στεροειδή των γονάδων, τη δαπάνη ενέργειας για κινητική δραστηριότητα και οσφρητικά ερεθίσματα επιδρούν στο εκκριτικό σύστημα της GnRH των θηλαστικών και κατ'επέκταση πολλοί νευρομεταβιβαστές και νευροπεπτίδια εμπλέκονται στη μεταβίβαση σημάτων στους νευρώνες της GnRH. Η συσχέτιση μεταξύ του σωματικού βάρους και της εισόδου στην ήβη ως σχέση αιτίας – αποτελέσματος οδήγησε στην υπόθεση του *κρίσιμου σωματικού βάρους*. (Frisch & McArthur, 1974).

Σε πολλά είδη θηλαστικών παρατηρήθηκε, ότι περιορισμός της απόκτησης σωματικού βάρους λόγω περιορισμένης διατροφής καθυστερεί την είσοδο στην ήβη. Αποσαφηνίστηκε ότι το σωματικό λίπος οδηγεί σε ορθότερη πρόβλεψη της εισόδου στην ήβη από το σωματικό βάρος. Η συσχέτιση πρώιμης απόκτησης σωματικού λίπους

με την πρώιμη είσοδο στην ήβη οδήγησε στην αναζήτηση του μηχανισμού που λειτουργεί ως σύνδεσμος μεταξύ του ενεργειακού μεταβολισμού και του εκκρινικού συστήματος της GnRH.

Μελέτες έδειξαν ότι στέρηση τροφής και αναγκαστική δραστηριότητα μπορούν να καταστείλουν τους ωοθυλακικούς κύκλους και την αναπαραγωγική συμπεριφορά σε θηλυκά θηλαστικά αν τα αποθέματα λίπους είναι ανεπαρκή για να ανταπεξέλθουν σε αυτές τις απαιτήσεις. (Bronson 2000, Schneider & Wade 2000).

1.2. Ο τρόπος που παράγοντες του εσωτερικού και του εξωτερικού περιβάλλοντος προσδιορίζουν το χρόνο εισόδου στην ήβη

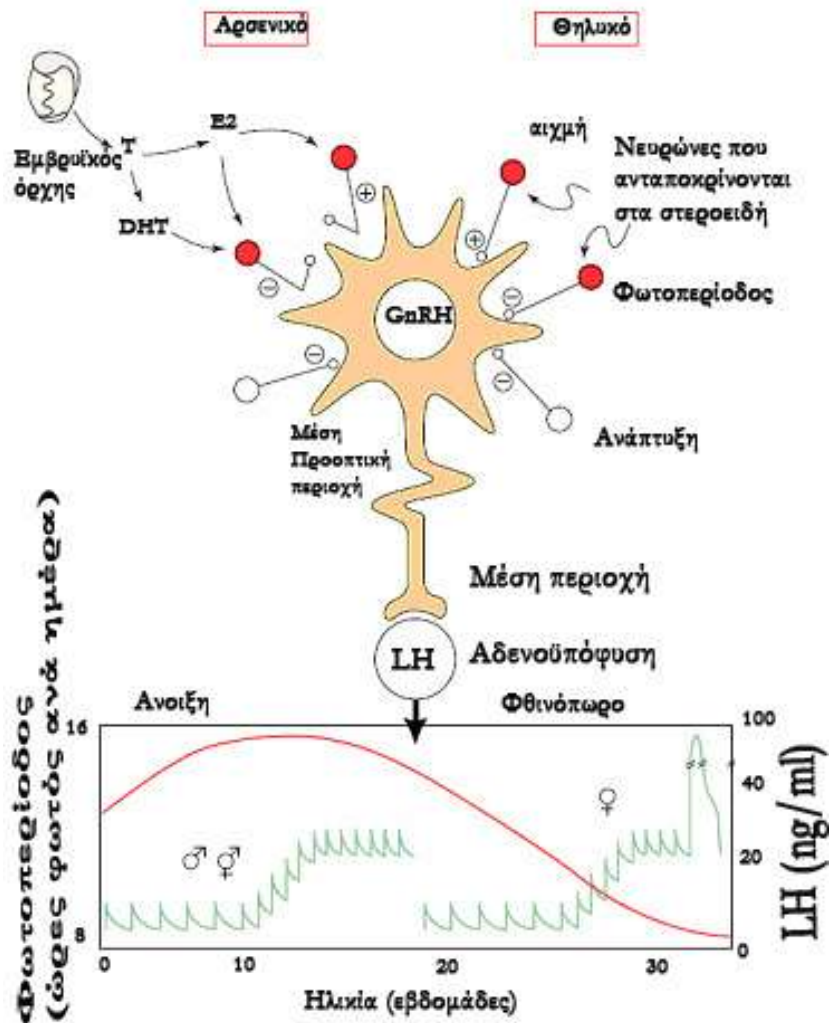
1.2.1. Σωματικό Βάρος

Είναι γενικά αποδεκτό ότι η πληροφορία που αφορά στην ανάπτυξη και τον μεταβολισμό προκύπτει από σήματα νευρικής φύσεως καθώς και προερχόμενα από τη κυκλοφορία του αίματος προς το κεντρικό νευρικό σύστημα. Αν αυτά τα σωματικά μηνύματα υπαγορεύουν ότι η ανάπτυξη είναι ανεπαρκής έτσι ώστε η αναπαραγωγή να λάβει χώρα με ακραίες μεταβολικές απαιτήσεις για το νεαρό αμνό, η αναπαραγωγική ωρίμανση αναστέλλεται.

Αυτό το φαινόμενο συγκρίνεται με τη νευρική ανορεξία στους ανθρώπους.

(Foster *et al.*, 1999).

Υψηλή παλμική συχνότητα της LH ξεκινά μόνο όταν έχει επιτευχθεί το κατάλληλο επίπεδο της ανάπτυξης. Θεωρητικά η ευαισθησία στα μεταβολικά σήματα στο πρόβατο μπορεί να διαφέρει, όπως συμβαίνει με το ποντίκι. (Hamilton & Bronson, 1985). Διερεύνηση του περιορισμού τροφής και υποσιτισμού σε αμνούς και αμνάδες δείχνει ότι υπάρχει μια ισοδύναμη ευαισθησία στα μεταβολικά μηνύματα. (Wood *et al.*, 1991b). Αυτά τα ευρήματα υποδηλώνουν ότι οι φυλετικές διαφορές στην ανάπτυξη και στις μεταβολικές απαιτήσεις δεν είναι καθοριστικής σημασίας για πρώιμη είσοδο των αρσενικών στην ήβη.



Εικόνα 1. Διαφοροποίηση στην αναπαραγωγική νευροενδοκρινική λειτουργία των αμνών η οποία εξαρτάται από το φύλο: Η τωρινή υπόθεση. Στεροειδή από τον εμβρυικό όρχη δρουν σε νευρώνες που ανταποκρίνονται σε αυτά στον εγκέφαλο των αρσενικών προκειμένου να μειώσουν τις συνάψεις στους νευρώνες της GnRH. Τα οιστρογόνα απαλείφουν τις διεγερτικές νευρικές συνδέσεις που είναι υπεύθυνες για τη πρόκληση της πρωοθυλακιορρηκτικής αιχμής της GnRH, ενώ τα ανδρογόνα (και ενδεχομένως και τα οιστρογόνα επίσης) μειώνουν τις ανασταλτικές συνάψεις που προσδιορίζουν την μεταγεννητική ανταπόκριση στις μεταβολές της φωτοπεριόδου. Παρόλα αυτά όμως, οι αμνοί και των δύο φύλων είναι ευαίσθητοι

σε σήματα που αφορούν την ανάπτυξη και το μεταβολισμό. (R.I. Wood and D.L. Foster, 1998)

1.2.2. Φωτοπερίοδος

Μετά την επίτευξη της κατάλληλης σωματικής ανάπτυξης, η αμνάδα πρέπει να αρχίσει την αναπαραγωγική της δραστηριότητα την ιδανική εποχή του έτους. Η αναπαραγωγική ωρίμανση συμβαίνει μόνο όταν έχουν ολοκληρωθεί και οι δύο παράμετροι, η ανάπτυξη και η φωτοπερίοδος. (Foster *et al.*, 1986). Πολλά ζώα που διαβιούν σε αφιλόξενες περιοχές από πλευράς θερμοκρασίας περιβάλλοντος, περιορίζουν την αναπαραγωγική τους δραστηριότητα σε συγκεκριμένες εποχές του έτους, προκειμένου να μεγιστοποιήσουν τη πιθανότητα επιβίωσης των απογόνων τους. Είδη με μικρή διάρκεια κυοφορίας όπως τα πτηνά και τα μικρά θηλαστικά γεννούν κατά τη διάρκεια της άνοιξης και του καλοκαιριού και είναι γνωστά ως μακράς περιόδου εποχικής αναπαραγωγής (γιατί τότε μεγαλώνει η διάρκεια της μέρας). Αντίθετα, είδη με διάρκεια κυοφορίας 5-6 μήνες όπως το ελάφι, η αίγα και το πρόβατο που έχει διάρκεια κυοφορίας σχεδόν 5 μήνες (147 ημέρες) εισέρχονται στην αναπαραγωγική τους περίοδο το φθινόπωρο και είναι γνωστά ως ζώα μικρής περιόδου εποχικής αναπαραγωγής (γιατί τότε μικραίνει η διάρκεια της μέρας).

Αυτά τα εποχικής αναπαραγωγής ζώα χρησιμοποιούν τις μεταβολές που αφορούν τη περίοδο φωτός / σκότους ή φωτοπερίοδο ως ημερολογιακό δείκτη και ανάλογα ρυθμίζουν πολλές διαδικασίες φυσιολογικές και συμπεριφοράς συμπεριλαμβανομένων της αναπαραγωγής, της μετανάστευσης, της χειμερίας νάρκης και των μεταβολών στο σωματικό βάρος. Στα μακράς ημέρας ζώα η αύξηση της φωτοπερίοδου κατά την άνοιξη διεγείρει την έκκριση της απελευθερωτικής ορμόνης των γοναδοτροπινών GnRH από τον υποθάλαμο και κατ' επέκταση απελευθερώνονται η LH και η FSH από τον αδένα της υπόφυσης.

Αντίθετα η μείωση της φωτοπερίοδου στη διάρκεια του φθινοπώρου διεγείρει την έκκριση αυτών των ορμονών στα μικρής ημέρας ζώα στα οποία ανήκει και το πρόβατο. Αυτό το φαινόμενο λέγεται φωτοπεριοδισμός. Σε όλα τα σπονδυλωτά η μελατονίνη εκκρίνεται σε καθημερινή βάση από τον αδένα της επιφύσης υπό τον έλεγχο

συστήματος νυχθημερήσιου ρυθμού. Η έκκρισή της φτάνει σε αιχμή την νύχτα και διακόπτεται την ημέρα (Wood & Foster, 1998). Σύμφωνα όμως με άλλους ερευνητές κατά τη διάρκεια της ημέρας λαμβάνει χώρα σύνθεση και έκκριση μελατονίνης αλλά σαφώς σε χαμηλά επίπεδα.

(Morgan Peter & Mercer Julian Symposium in Seasonality, 1994)

Στα θηλαστικά, το σήμα του φωτός λαμβάνεται από τον αμφιβληστροειδή χιτώνα του ματιού και μετατρέπεται σε νυχθημερήσιο βηματοδότη στον υπερχιασματικό πυρήνα του υποθάλαμου. Η έκκριση της μελατονίνης για μεγάλο χρονικό διάστημα καταστέλλει την έκκριση των γοναδοτροπινών στα ινδικά χοιρίδια αλλά την διεγείρει στο πρόβατο ενώ δεν εμπλέκεται σε φωτοενδοκρινικό άξονα στα πτηνά.

Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία πρόβατα που διαβιούν σε θερμοκρασίες μεσαίου ή υψηλού γεωγραφικού πλάτους (περισσότερο από 35° N & 35° S) παρουσιάζουν εποχική αναπαραγωγή και χρησιμοποιούν ετήσια απόκλιση στην ημερήσια φωτοπερίοδο το χρόνο ρύθμισης της ετήσιας αναπαραγωγής τους. (Thurn, 2006).

Από την άλλη, σε τροπικά και υποτροπικά περιβάλλοντα οι προβατίνες δεν παρουσιάζουν εποχική αναπαραγωγή κατά διαστήματα.

Αμνάδες (φυλής Suffolk) που γεννήθηκαν την άνοιξη εισήλθαν στην ήβη το φθινόπωρο σε ηλικία περίπου των τριάντα εβδομάδων, λίγο μετά την έναρξη της αναπαραγωγικής περιόδου των ενηλίκων. (Foster *et al.*, 1989). Αντίθετα, οι αμνοί ξεκίνησαν τη σπερματογένεση περίπου στην ηλικία των 10-15 εβδομάδων ανεξάρτητα από την εποχή. (Courrot *et al.*, 1975). Ο εποχικός παράγοντας που προσδιορίζει την είσοδο στην ήβη των θηλυκών είναι λοιπόν η φωτοπερίοδος, και συγκεκριμένα όταν μειώνεται το μήκος της ημέρας από μακρές σε μικρές ημέρες όπως συμβαίνει στη φύση μετά το καλοκαιρινό ηλιοστάσιο (21 Ιουνίου). (Yellon & Foster, 1985).

Αντίθετα, οι αμνοί δεν φαίνεται να επηρεάζονται από τις μεταβολές στη φωτοπερίοδο.

Στη πραγματικότητα στους αμνούς που γεννήθηκαν την άνοιξη, η κατά την ήβη αύξηση των γοναδοτροπινών αρχίζει κατά τη διάρκεια των μακρών ημερών του καλοκαιριού – μια φωτοπερίοδο δηλαδή που φυσιολογικά είναι ανασταλτικός παράγοντας για την ενήβωση των αμνάδων. (Ebling & Foster, 1988).

Η φυλετική διαφορά στην αναπαραγωγική ανταπόκριση στη φωτοπερίοδο των νεαρών προβάτων είναι αποτέλεσμα της οργανωμένης δράσης των ανδρογόνων του όρχη κατά τη διάρκεια της εμβρυϊκής ανάπτυξης.

Ένδειξη της εγκυρότητας αυτής της θεωρίας αποτελούν ανδρογονοποιημένα θηλυκά αρνιά που διατηρήθηκαν σε συνθήκες ελεγχόμενης φωτοπεριόδου.

Υπό φυσιολογική κινητοποίηση από τη φωτοπερίοδο, η τονική έκκριση της LH αυξήθηκε στα γοναδοκτομημένα αρσενικά με αγωγή οιστραδιόλης, ζώα ηλικίας επτά εβδομάδων, όταν η μέρα μεγάλωνε αποδεικνύοντας ότι η συμπεριφορά αυτή δεν επηρεάστηκε από τη τρέχουσα ορμονική κατάσταση αλλά από τη δράση των ανδρογόνων που είχε λάβει χώρα στην εμβρυϊκή περίοδο. Σε φυσιολογικά θηλυκά που αντιμετωπίστηκαν με τον ίδιο τρόπο η αναπαραγωγική ωρίμανση συνέβη στην ηλικία των είκοσι επτά εβδομάδων όταν δηλαδή το μήκος της ημέρας μειωνόταν. (Wood & Foster, 1998)

Η αντιστροφή της φωτοπεριόδου δεν έχει επίδραση στα αρσενικά αλλά καθυστερεί την αναπαραγωγική ωρίμανση των θηλυκών πέρα των τριάντα δύο εβδομάδων της ηλικίας. (Wood & Foster, 1998)

Προγεννητική αγωγή θηλυκών με ανδρογόνα ανδρογονοποιεί την αναπαραγωγική ανταπόκριση στη φωτοπερίοδο και τα καθιστά απευαισθητοποιημένα στα ανασταλτικά αποτελέσματα της φωτοπεριόδου όταν μεγαλώνει το μήκος της ημέρας.

Σε αυτά τα ανδρογονοποιημένα θηλυκά υπό εξομοίωση αντίστροφης φωτοπεριόδου η LH αυξάνεται στις επτά εβδομάδες, σε παρόμοιο δηλαδή χρόνο με την αύξηση της LH στα αρσενικά. (Herbosa *et al.*, 1995)

Τα στεροειδή των γονάδων συμβάλουν στο χρόνο εισόδου στην ήβη και σε θηλυκά και σε αρσενικά αρνιά μέσω της φυλετικής διαφοροποίησης των απαιτήσεων σε φωτοπερίοδο.

Για να χρησιμοποιήσουν όμως τις μεταβολές στο μήκος της ημέρας και τα θηλυκά και τα αρσενικά αρνιά χρειάζονται την ιστορία φωτοπεριόδου η οποία δημιουργείται με τις μεταβολές στο κιρκάδιο ρυθμό της ορμόνης μελατονίνης που εκκρίνεται από τον αδένα της επίφυσης. Οι φυλετικές διαφορές στη φωτοπερίοδο σχετίζονται με τη μετάφραση του ρυθμού της μελατονίνης και όχι με την έκκριση της μελατονίνης αυτής καθεαυτής. (Wood & Foster, 1998, Foster *et al.*, 1986).

Ο ρυθμός έκκρισης της μελατονίνης δεν διαφέρει στα αρσενικά από τα θηλυκά αρνιά παρά το γεγονός ότι αρσενικά και θηλυκά ανταποκρίνονται με διαφορετικό τρόπο στις μεταβολές του μήκους της ημέρας, το καθένα ανάλογα με τις δικές τους ειδικές απαιτήσεις σε φωτοπερίοδο για την αναπαραγωγική του ανάπτυξη. (Claypool *et al.*, 1989).

Είναι συνήθης πρακτική η χορήγηση εμφυτευμάτων μελατονίνης στα πρόβατα για τη μείωση της διάρκειας της άνοιστρης περιόδου. Η χορήγηση αυτή αυξάνει μάλιστα την πολυδυμία. (Μενεγάτος, 2002).

2 ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Βιβλιογραφική ανασκόπηση Μεταβολικές ορμόνες και είσοδος στην ήβη

2.1 Μεταβολικές Ορμόνες

Η λέξη *ορμόνη* αποτελεί αντιδάνειο από την ελληνική λέξη (η προφορά του *h* στο πολυτονικό σύστημα δηλώνεται με το σημείο στίξης της δασείας) *ορμάω* από τη μετοχή του ενεστώτα *ορμών* του αρχαίου *ορμώ* και σημαίνει κινούμαι με ορμή, επιτίθεμαι, ξεκινώ από κάτι ή κατάγομαι. (Μπαμπινιώτης, 2004).

Ορμόνη καλείται κάθε ουσία που εκκρίνεται από ένα κύτταρο και δρα σε ένα άλλο κύτταρο αφού συνδεθεί με τους κατάλληλους υποδοχείς. Οι ορμόνες επιφέρουν αυτό το αποτέλεσμα με μοναδικές χημικές δομές που αναγνωρίζονται από συγκεκριμένους υποδοχείς στα κύτταρα- στόχους, από τα σχέδια εκκρίσεως και από τις συγκεντρώσεις τους στη περιφερική ή σε τοπική κυκλοφορία. (Χαδιώ, 2006).

Τουλάχιστον δύο κριτήρια πρέπει να ικανοποιούνται για να μπορεί να θεωρηθεί μία ουσία της κυκλοφορίας του αίματος ως μεταβολικό σήμα προσδιορισμού του χρόνου εισόδου στην ήβη και αύξησης της έκκρισης της GnRH. 1) Η κυκλοφορούσα ουσία πρέπει να διαφέρει ποσοτικά στο αναπαραγωγικά ανώριμο συγκριτικά με το αναπαραγωγικά ώριμο ζώο και πρέπει να αυξάνεται ή να μειώνεται ανάλογα με την σωματική ανάπτυξη.

Για την εκπλήρωση αυτού του κριτηρίου πρέπει η ουσία να φτάσει τις συγκεντρώσεις που παρατηρούνται στο ενήλικο με ένα τρόπο που χρονικά να είναι σημαντικός για την είσοδο στην ήβη. Αν οι περιφερικές συγκεντρώσεις της υποψήφιας ουσίας εμφανίζουν μεταβολή μεγάλο χρονικό διάστημα πριν τον χρόνο ενήβωσης τότε είναι αμφισβητήσιμο το κατά πόσο αυτή η ουσία μπορεί να θεωρηθεί ως μεταβολικό σήμα.

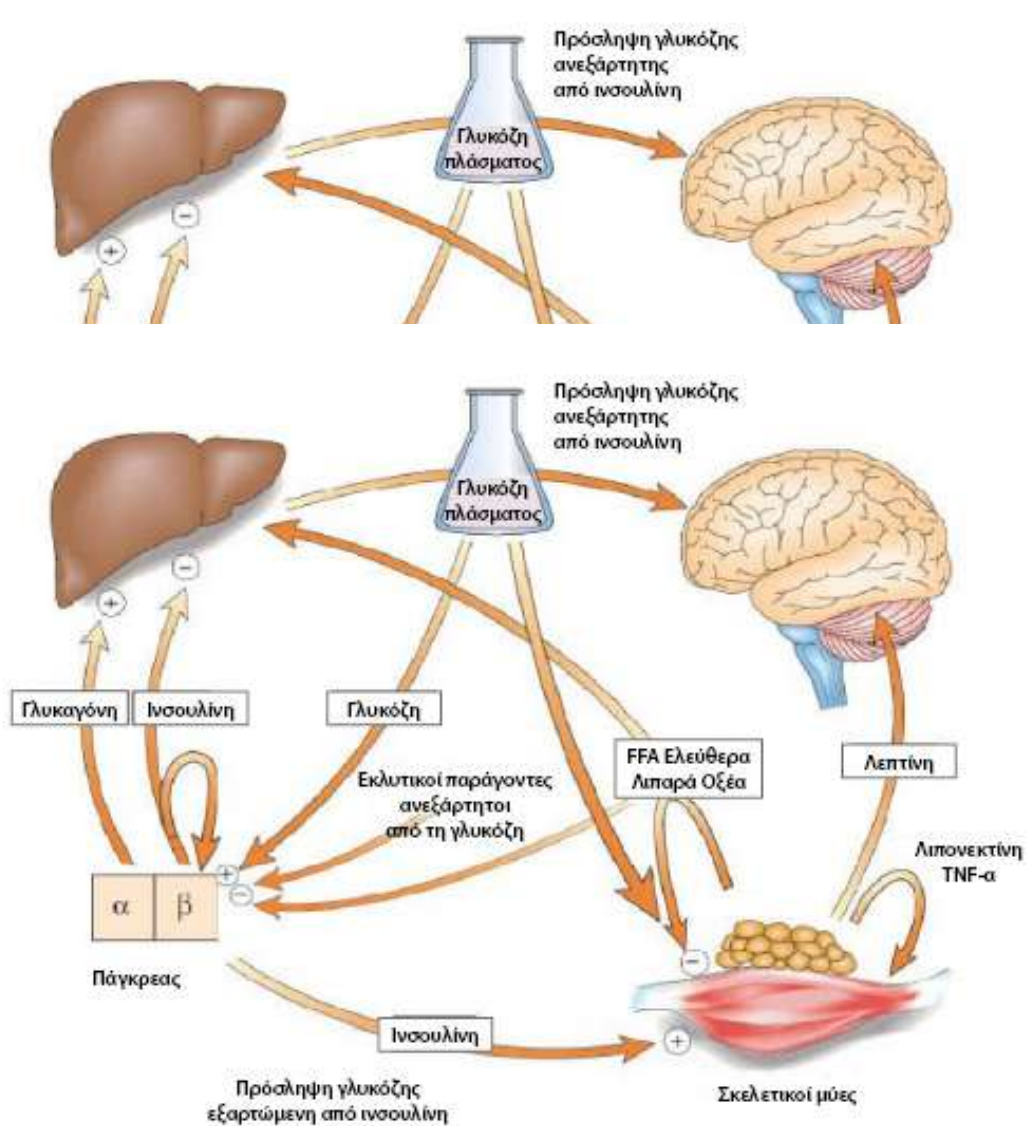
2) Η ουσία αυτή όταν χορηγηθεί πρέπει να οδηγεί σε μεταβολή της έκκρισης της GnRH έτσι ώστε επάγει ή καθυστερεί την αύξηση της GnRH κατά την ήβη.

Για την εκπλήρωση αυτού του κριτηρίου η υποψήφια ουσία πρέπει να είναι ικανή να οδηγήσει σε υψηλή έκκριση GnRH αρκετά νωρίτερα πριν από την πιο πρόιμη χρονικά στιγμή που μπορεί να εισέλθει το ζώο στην ήβη φυσιολογικά κάτω από συνθήκες ιδανικής ανάπτυξης.

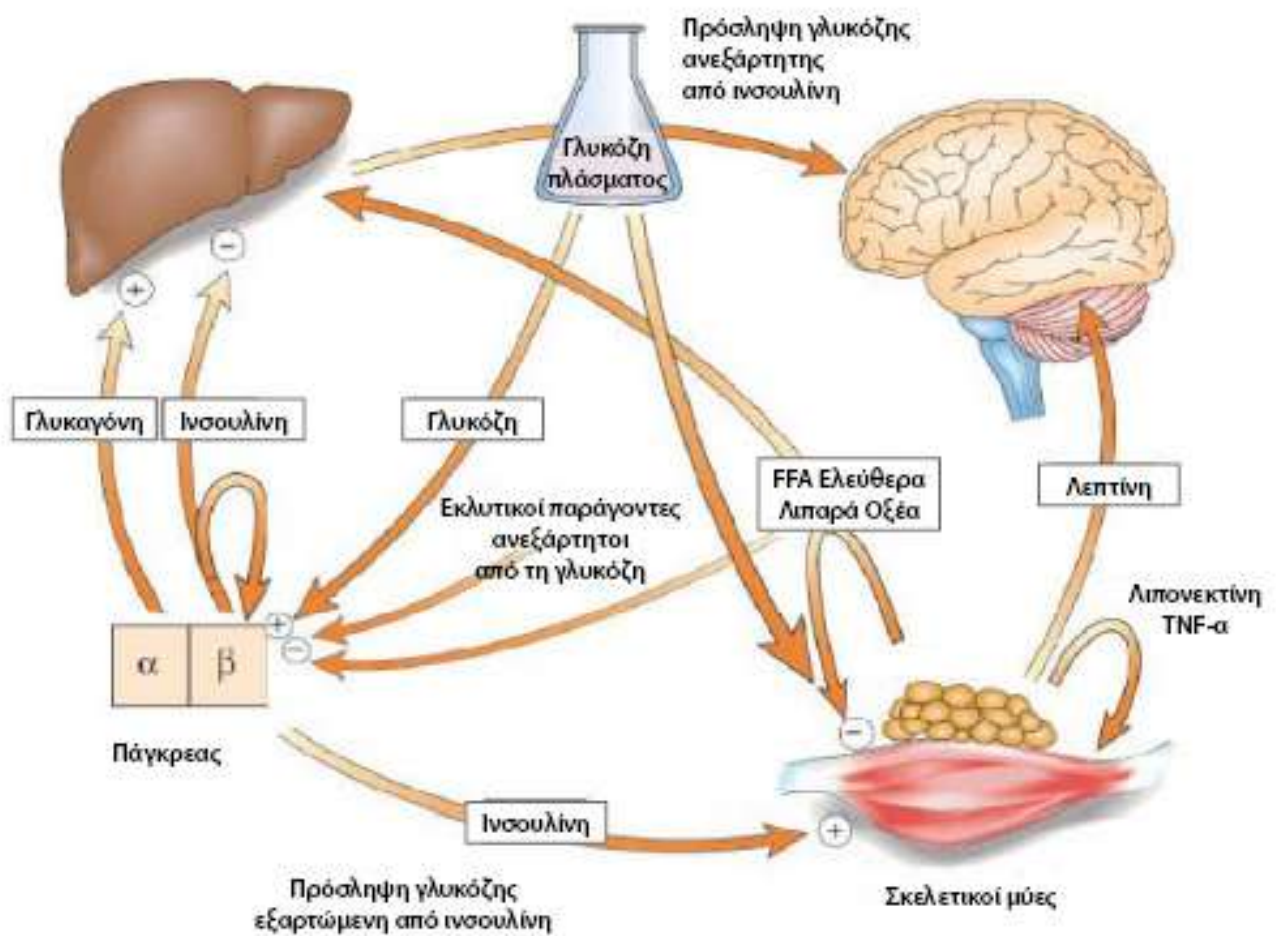
Είναι προφανές ότι οι περιφερικές συγκεντρώσεις αυτού του σήματος / ουσίας της ήβης πρέπει να διαφέρουν για το αναπαραγωγικά ανώριμο ζώο με μειωμένη έκκριση GnRH συγκριτικά με το ενήλικο με υψηλή έκκριση GnRH.

Εφόσον μεταβάλλονται οι συγκεντρώσεις στη διάρκεια της ανάπτυξης και της εξέλιξης, πρέπει να μεταβάλλεται και η ευαισθησία του αισθητήρα στην ουσία αυτή. Αυτός ο όρος δεν καθιστά την ουσία αίτιο εισόδου στην ήβη αλλά μόνο επιτρεπτικό παράγοντα και μένει να διαλευκανθεί τι προκαλεί τη μεταβολή στην ευαισθησία. Τέλος πρέπει να αναφερθεί ότι ακόμα και εάν προσδιοριστεί μία ουσία ως μεταβολικό σήμα εισόδου στην ήβη πρέπει να μην είναι αποτελεσματική νωρίτερα σε πιο πρώιμα στάδια ανάπτυξης. (Foster & Nagatani, 1999).

Η διαθεσιμότητα της γλυκόζης έχει αναφερθεί ως υποψήφιο μεταβολικό σήμα σύμφωνα με διάφορες ενδείξεις που δείχνουν ότι η διακύμανση στην διαθεσιμότητα της γλυκόζης μπορεί να παρέχει πληροφορία στον έλεγχο της έκκρισης της GnRH.



αι
ον
τη
το
ης
6,
αι
εί
ξει
με
ος
L.,



Εικόνα 2. Η πρόσληψη και ο μεταβολισμός της γλυκόζης από τους ιστούς και η επίδραση της ινσουλίνης στη ρύθμιση των επιπέδων γλυκόζης πλάσματος (Ducluzeau PH 2002)

2.2. Η Ινσουλίνη

Η ινσουλίνη είναι μια πεπτιδική ορμόνη που αποτελείται από 51 αμινοξέα και έχει μοριακό βάρος 5808 Da. Παράγεται από τα νησίδια (islets) του Langerhans του παγκρέατος. Το όνομά της προέρχεται από το Λατινικό insula που σημαίνει νησί –

νησίδιο. (The Wikipedia). Η ινσουλίνη ανακαλύφθηκε από τους Frederick Banting και Charles Best το 1921 (- Απονομή του Βραβείου Νόμπελ 1923//Χαδιώ 2006, The Wikipedia). Είναι ορμόνη που παράγεται από τα β-κύτταρα της ενδοκρινούς μοίρας του παγκρέατος.

Η ενδοκρινής μοίρα αποτελείται από διάσπαρτες ομάδες κυττάρων που λέγονται νησίδια του Langerhans τα οποία δέχονται νευρικές ίνες από το πνευμονογαστρικό και το συμπαθητικό νευρικό σύστημα. Στα θηλαστικά (εκτός του ινδόχοιρου) αποτελούνται από τρεις τύπους κυττάρων: α, β και δ. Τα β- κύτταρα καταλαμβάνουν τη κεντρική μοίρα του νησιδίου ενώ τα α-κύτταρα την περιφερική ενώ τα δ-κύτταρα βρίσκονται ενδιάμεσα από τα α- & β- κύτταρα. Τα β- κύτταρα εκκρίνουν την ορμόνη λοιπόν των νησιδίων ή την ινσουλίνη (insular σημαίνει νησιδιακός).

2.2.1. Φυσιολογικός ρόλος της ινσουλίνης

Η ινσουλίνη μειώνει τη συγκέντρωση γλυκόζης στη κυκλοφορία του αίματος. Αυτό το πετυχαίνει αυξάνοντας τη πρόσληψη γλυκόζης από τους μύες και τον λιπώδη ιστό, καθώς και από το ήπαρ, μειώνει το ρυθμό αποδόμησης του γλυκογόνου σε γλυκόζη (γλυκογονόλυση), αυξάνει την παραγωγή γλυκογόνου από γλυκόζη(γλυκογονογένεση) και μειώνει το σχηματισμό γλυκόζης από μη υδατανθρακούχες ουσίες(γλυκονεογένεση) Σημαντικές ποσότητες ινσουλίνης δεσμεύονται στο ήπαρ και στους νεφρούς.

Η ινσουλίνη αυξάνει τη πρόσληψη γλυκόζης από τα μυϊκά κύτταρα, καθώς και από τα λευκοκύτταρα και το λιπώδη ιστό, ενώ ευνοεί ακόμη την οξειδωση της γλυκόζης σε αρκετούς ιστούς. Επίσης, η ινσουλίνη επιδρά στο μεταβολισμό των πρωτεϊνών. Αυξάνει τη διόδο των περισσότερων αμινοξέων από τη κυτταρική μεμβράνη, αυξάνει τη σύνθεση RNA και τη σύνθεση πρωτεϊνών στα ριβοσώματα. Αυξάνει τη χρησιμοποίηση της γλυκόζης από τα κύτταρα για παραγωγή ενέργειας, η οποία χρησιμοποιείται από τα κύτταρα κι έτσι εξοικονομούνται πρωτεΐνες.

Η σημαντική επίδραση της ινσουλίνης στο μεταβολισμό των λιπιδίων είναι ότι αυξάνει την αποθήκευση λίπους και παρεμποδίζει τόσο τη κινητοποίησή του όσο και την οξειδωση των λιπαρών οξέων. (McDonald, 1980)

Ο σημαντικότερος όμως φυσιολογικός ρόλος που διαδραματίζει η ινσουλίνη είναι η ρύθμιση του μεταβολικού θρεπτικού υποστρώματος από τους ιστούς που είναι ευαίσθητοι σε αυτήν, όπως οι σκελετικοί μύες και το λίπος.

Με τη παρουσία ινσουλίνης, τα διάφορα υποστρώματα που προέρχονται από τη πέψη της τροφής μεταβολίζονται ενώ το θερμιδικό πλεόνασμα αποθηκεύεται ως λίπος.

Ιδιαίτερα εμφανής λοιπόν είναι η επίδραση της ινσουλίνης στο λιπώδη ιστό όπου ευνοεί την λιπογένεση και αναστέλλει την λιπόλυση με αποτέλεσμα την αύξηση εναπόθεσης του σωματικού λίπους (Bizelis, Deligeorgis and Rogdakis 1990, Weeks, 1986).

Όσον αφορά την ομοιοστασία της γλυκόζης, η ινσουλίνη συμμετέχει στη περιφέρεια σε επίπεδα αναλογικά του σωματικού λίπους και η συγκέντρωσή της στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό βρίσκεται σε άμεση αναλογία με τα επίπεδά της στη περιφέρεια. Ενδέχεται κύτταρα του νευρικού συστήματος να παράγουν ινσουλίνη τοπικά αν και η σημασία αυτής της έκφρασης ινσουλίνης για τον εγκέφαλο δεν έχει διελευκανθεί. (Taylor & Francis, 2001)

Υποδοχείς ινσουλίνης εκφράζονται από νευρώνες του υποθαλάμου οι οποίοι διαδραματίζουν κάποιο ρόλο στη ρύθμιση της ενεργειακής ομοιοστασίας και της πρόσληψης τροφής. Αυτός ο ρόλος της ινσουλίνης ως παράγοντας κορεσμού είναι σύμφωνος με παρατηρήσεις κατά τις οποίες ενδοεγκεφαλική χορήγηση ινσουλίνης αναστέλλει τη πρόσληψη τροφής σε φυσιολογικούς επίμυες, και αναστρέφει το σύνδρομο υπερφαγίας των ζώων με ανεπάρκεια ινσουλίνης. (Kronenberg , 2008)

Οι κεντρικές δράσεις της ινσουλίνης στη πρόσληψη τροφής πιθανότατα διαμορφώνονται, μερικώς τουλάχιστον, μέσω της αναστολής της έκφρασης των νευρώνων του νευροπεπτιδίου Y του τοξοειδούς πυρήνα του υποθαλάμου. (Kronenberg , 2008). Μελέτες αναφέρουν ότι αυξανόμενα επίπεδα κυκλοφορούσης ινσουλίνης λόγω υπερινσουλινικής αντλίας διεγείρουν την έκκριση της LH. (Taylor & Francis, 2001, Kronenberg , 2008).

Αύξηση της συγκέντρωσης γλυκόζης στο αίμα αυξάνει την έκκριση ινσουλίνης (αλλά και τη σύνθεση ινσουλίνης). Η έκκριση ινσουλίνης είναι μεγαλύτερη αμέσως μετά τη πρόσληψη τροφής και μειώνεται κατά τη νηστεία. Αν είναι πολύ μεγάλη η συγκέντρωση των κετονικών σωμάτων στο αίμα, πάλι αυξάνεται η έκκριση ινσουλίνης. Η έκκριση διεγείρεται και από ορμόνες του γαστρεντερικού σωλήνα. Η αυξητική

ορμόνη της υπόφυσης και τα γλυκοκορτικοειδή των επινεφριδίων αυξάνουν την ανταπόκριση των β-κυττάρων του παγκρέατος στην υπεργλυκαιμία και σε άλλα ερεθίσματα και συντελούν στην αύξηση της έκκρισης της ινσουλίνης. Ανάλογο ρόλο παίζει και η θυροξίνη(T4). Η έκκριση ινσουλίνης εξαρτάται από τη παρουσία ιόντων ασβεστίου σε επαρκείς ποσότητες στο εξωκυτταρικό υγρό. Ανάλογο ρόλο με τα ιόντα ασβεστίου παίζουν και τα ιόντα καλίου στην έκκριση ινσουλίνης. Συμπαθητικά νευρικά σήματα διεγείρουν την απελευθέρωση ινσουλίνης μέσω β-αδρενεργικών υποδοχέων (και αναστέλλουν μέσω α-αδρενεργικών υποδοχέων) ενώ το παρασυμπαθητικό πνευμονογαστρικό νεύρο διεγείρει την απελευθέρωση της ινσουλίνης (όπως και της γλυκαγόνης).

Η σωματοστατίνη από τα δ- κύτταρα αναστέλλει την ελευθέρωση της ινσουλίνης (όπως και της γλυκαγόνης) μέσω παρακρινικής δράσης.

Διέγερση ορισμένων περιοχών του υποθαλάμου μειώνει την έκκριση ινσουλίνης.

Υπό φυσιολογικές συνθήκες, η έκκριση της ινσουλίνης ελέγχεται κατά κύριο λόγο από χημικούς παράγοντες και λιγότερο από νευρικούς ενώ και εξωγενείς χημικές ουσίες μπορούν να επηρεάσουν την έκκριση της ινσουλίνης.

Οι κύριοι ιστοί – στόχοι για τις αναβολικές δράσεις της ινσουλίνης είναι το ήπαρ, ο λιπώδης ιστός και οι μύες.

Στον λιπώδη ιστό, η γλυκόζη μετατρέπεται σε λιπαρά οξέα για αποθήκευση ως τριγλυκερίδια. Η ινσουλίνη διεγείρει τη πρόσληψη αμινοξέων στους μύες και καταστέλλει τη κινητοποίηση ενέργειας αναστέλλοντας τη διάσπαση γλυκογόνου στο ήπαρ, την απελευθέρωση αμινοξέων από τους μύες και την απελευθέρωση των ελεύθερων λιπαρών οξέων από το λιπώδη ιστό.

Η γλυκόζη είναι ο πλέον διεγερτικός παράγοντας για την έκκριση της ινσουλίνης.

Τα τριγλυκερίδια και τα λιπαρά οξέα έχουν μικρή μόνο διεγερτική δράση και τα κετονικά σώματα διεγείρουν την απελευθέρωση ινσουλίνης.

Σε ανταπόκριση λήψης από του στόματος γλυκόζης η ινσουλίνη εκκρίνεται σε δύο φάσεις: Η πρώτη φάση αντιπροσωπεύει την απελευθέρωση της ινσουλίνης που είναι αποθηκευμένη στα εκκριτικά κοκκία. Δέκα λεπτά της ώρας περίπου αργότερα τα προσχηματισμένα κοκκία έχουν μειωθεί, ενώ υπάρχει μια βαθμιαία και σταθερή αύξηση στην απελευθέρωση ινσουλίνης. Ινσουλίνη εκκρίνεται σε ανταπόκριση στην

αύξηση της συγκέντρωσης γλυκόζης στο εξωκυττάριο υγρό. Αυτό το μεταβολικό σήμα απαιτεί το μεταβολισμό της γλυκόζης σε πυροσταφυλικό οξύ και φαίνεται ότι εντοπίζεται από τη δραστηριότητα του ενζύμου γλυκοκινάση που καταλύει τη παραγωγή της γλυκόζης – 6- φωσφατάσης. Αυτό προωθεί το σήμα απελευθέρωσης της ινσουλίνης περιλαμβάνοντας το ATP, τερματίζοντας το κανάλι των μονοσθενών ιόντων καλίου K^+ , αποπολώνοντας και ανοίγοντας το κανάλι των δισθενών ιόντων ασβεστίου Ca^{2+} . Αυτή η διαδικασία εξελίσσεται ταχύτατα και η έκκριση της ινσουλίνης συμβαίνει ένα λεπτό μετά την έκθεση σε γλυκόζη. Ο εντοπισμός των μεταβολών της συγκεντρώσεως σε γλυκόζη γίνεται από τη παρουσία λαχνών που περιέχουν διάμεσο υγρό στο μήκος των ετερόπλευρων επιφανειών των γειτονικών β-κυττάρων ανάμεσα στα αρτηρίδια και στα φλεβίδια. Συγκεντρωμένες στις μικρολάχνες και συγκεκριμένα GLUT2 μεταφορείς γλυκόζης καθιστούν την ενδοκυτταρική συγκέντρωση της γλυκόζης στα β-κύτταρα να είναι ίδια με εκείνη στο διάμεσο υγρό. (Kronenberg: 2008).

Θεωρείται ότι η ινσουλίνη μεταφέρει στον εγκέφαλο τη πληροφορία για τη διατροφική κατάσταση του ζώου και ότι ρυθμίζει τη πρόσληψη τροφής και την αναπαραγωγική δραστηριότητα. Η έκκριση της ινσουλίνης επηρεάζεται από τη διαθεσιμότητα των θρεπτικών συστατικών όπως η γλυκόζη, τα αμινοξέα και τα πτητικά λιπαρά οξέα (Kacsoh 2000). Η παρουσία mRNA για υποδοχείς της ινσουλίνης στο τοξοειδή πυρήνα του υποθαλάμου επίμου και προβάτου δημιούργησε την θεωρία ότι η ινσουλίνη δρα ως μεταβολικός ρυθμιστής στον υποθάλαμο για τον έλεγχο της ενεργειακής ομοιοστασίας και της διατροφικής συμπεριφοράς (Marks *et al.*, 1990, Blache *et al.*, 2000c). Οι συγκεντρώσεις ινσουλίνης στο πλάσμα του αίματος αυξάνονται μία – πέντε ώρες μετά τη κατανάλωση τροφής και σχετίζονται θετικά με τα επίπεδα των θρεπτικών συστατικών και των σωματικών αποθεμάτων στα μηρυκαστικά. (Chilliard *et al.*, 1998, Miller *et al.*, 1998, Marie *et al.*, 2001).

Ενδοεγκεφαλική χορήγηση ινσουλίνης μειώνει τη πρόσληψη τροφής και διεγείρει τη παλμική έκκριση LH σε τρωκτικά και πρόβατο (Arias *et al.*, 1992, Miller *et al.*, 1995, Daniel *et al.*, 2000, Tanaka *et al.*, 2000).

Στο ενήλικο αρσενικό πρόβατο οι διακυμάνσεις στη συγκέντρωση της ινσουλίνης στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό δεν σχετίζονται πάντοτε με μεταβολές στη συχνότητα παλμών LH (Boukhliq *et al.*, 1997, Blache *et al.*, 2000c).

Συνήθως η προσθήκη πτητικών λιπαρών οξέων στο διαιτολόγιο αυξάνει τη συχνότητα παλμών LH δίχως όμως αυτή η αύξηση να συνοδεύεται από αύξηση ινσουλίνης στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό. Ενδοφλέβια χορήγηση γλυκόζης δεν επηρεάζει τη συχνότητα παλμών LH αλλά αυξάνει σημαντικά τη συγκέντρωση γλυκόζης στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό.

Φαίνεται ότι η ανταπόκριση στη χορήγηση ινσουλίνης εξαρτάται από το σημείο χορήγησης και από τη χορηγημένη δόση. Χορήγηση ινσουλίνης στη τελευταία κοιλία του εγκεφάλου δεν αυξάνει την συχνότητα παλμών LH θηλυκών αμνών (Hileman *et al.*, 1993) ενώ πολύ μικρές δόσεις ινσουλίνης(υπογλυκαιμία)αυξάνουν τη πρόσληψη τροφής και καταστέλλει την έκκριση LH σε πρόβατο, βοοειδή και πρωτεύοντα. (Rutter & Manns 1987, Clarke *et al.*, 1990, Heisler *et al.*, 1993).

Επειδή μεταβολές στη διατροφή συνοδεύονται από ραγδαίες μεταβολές στη συγκέντρωση της ινσουλίνης, θεωρείται ότι η ινσουλίνη εμπλέκεται στις βραχυπρόθεσμες συνέπειες της διατροφής στην αναπαραγωγή.

2.3. Ο λιπώδης ιστός ως ενδοκρινής αδέννας

Ο λιπώδης ιστός θεωρείται σημαντικός σταθμός για το μεταβολισμό των στεροειδών του φύλου και της παραγωγής του λιπώδους σήματος (adipsin), ενός ενδοκρινικού παράγοντα ο οποίος είναι σε πολύ χαμηλά επίπεδα σε παχύσαρκα τρωκτικά (Siiteri 1987, Flier JS *et al.*, 1987). Εκτός από το ότι ο λευκός λιπώδης ιστός είναι η κύρια παραγωγή της ορμόνης λεπτίνης, ο λιπώδης ιστός εκφράζει και εκκρίνει μια ποικιλία βιοενεργών πεπτιδίων, γνωστών ως λιποκίνες (adipokines) οι οποίες δρουν τοπικά (αυτοκρινικά / παρακρινικά) και συστηματικά (ενδοκρινικά) (Zhang *et al.*, 1994). Επίσης εκφράζει πολυπληθείς υποδοχείς που του επιτρέπουν να ανταποκρίνεται σε κεντρομόλα μηνύματα από τα παραδοσιακά ορμονικά συστήματα όπως επίσης και από το κεντρικό νευρικό σύστημα (Central Nervous System CNS). Εκτός από τη χρησιμότητά του ως όργανο αποθήκευσης και απελευθέρωσης ενέργειας, ο λιπώδης ιστός δρα και ως μεταβολική μηχανή που επιτρέπει την επικοινωνία ανάμεσα σε απομακρυσμένα όργανα και στο κεντρικό νευρικό σύστημα. Έτσι μέσα από αυτό το δίκτυο αλληλεπίδρασης, ο λιπώδης ιστός είναι αναπόσπαστο μέρος του συγχρονισμού μιας ποικιλίας βιολογικών διεργασιών που περιλαμβάνουν τον ενεργειακό μεταβολισμό, τη νευροενδοκρινική λειτουργία και την ανοσοποιητική λειτουργία.

Η σημαντική ενδοκρινική λειτουργία του λιπώδους ιστού φαίνεται από τις μεταβολικές συνέπειες στην αύξηση ή ελάττωσή του.

Εκτός από τα λιποκύτταρα, ο λιπώδης ιστός περιέχει και συνδετικό ιστό, νευρικό ιστό, αγγειακό πρωτεϊνικό στρώμα και κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος. (Frayn *et al.*, 2003) Αν και τα λιπώδη κύτταρα εκφράζουν και εκκρίνουν διάφορες ορμόνες όπως η λεπτίνη και η λιπονεκτίνη, πολλές πρωτεΐνες εκκρίνονται από το μέρος του λιπώδους ιστού που δεν έχει λιποκύτταρα. Αυτές οι λειτουργίες ενσωματωμένες σε μία ενότητα καθιστούν τον λιπώδη ιστό πραγματικό ενδοκρινές όργανο.

2.3.1 Λιποκίνες και Εντεροκίνες

Ο λιπώδης ιστός συνθέτει και εκκρίνει πολλά πεπτίδια που εμπλέκονται στη ρύθμιση της ενεργειακής ομοιοστασίας, της δράσης της ινσουλίνης και του μεταβολισμού των λιπιδίων. Κάποια από αυτά όπως η λεπτίνη εκκρίνονται από τον λιπώδη ιστό ενώ η έκκριση κάποιων άλλων όπως του νεκρωτικού παράγοντα των όγκων τύπου α (TNF-α) είναι γενικευμένη. Μείωση στη μάζα του λίπους επιφέρει συνήθως και μείωση στα επίπεδα κυκλοφορίας αυτών των ορμονών. Κάποιες ορμόνες εκκρίνονται αντιστρόφως ανάλογα με τη μάζα του λιπώδους ιστού. Κάποιες λιποκίνες όπως η λιπονεκτίνη, μπορούν να ασκούν ευεργετικά αποτελέσματα στη δράση της ινσουλίνης ενώ άλλες όπως ο νεκρωτικός παράγοντας των όγκων τύπου α (TNF-α) να ασκούν ανασταλτικές επιδράσεις.

Το έντερο εκκρίνει πολλές ορμόνες που αναφέρονται ως εντεροκίνες και κάποιες από αυτές έχουν ενδοκρινικά αποτελέσματα που σχετίζονται με την αναπαραγωγή.

Με άλλα λόγια, ο σπλαχνικός λιπώδης ιστός παράγει ορμόνες που εκκρίνονται στην πυλαία φλέβα και έχουν άμεση πρόσβαση στο ήπαρ και ορμόνες που προέρχονται από τον υποδόριο λιπώδη ιστό εκκρίνονται στη συστηματική κυκλοφορία.

2.3.2. Λιποκίνες

Η λεπτίνη

Η υπόθεση ύπαρξης κάποιου περιφερικού παράγοντα που ενημερώνει τον εγκέφαλο για την ενεργειακή κατάσταση του οργανισμού προτάθηκε αρχικά τη δεκαετία του 1950 (Kennedy GC, 1953, Friedman JM, 1998) αλλά μόλις το 1994 αναλύθηκε η δομή του γονιδίου που παράγει το παράγοντα αυτό ο οποίος ονομάστηκε λεπτίνη από τον Zhang Y (1994).

Από τη κλωνοποίηση του LEP γονιδίου μέχρι σήμερα, έχουν δημοσιευτεί περισσότερες από δέκα χιλιάδες εργασίες για τη λεπτίνη καθιστώντας την μία από τις πλέον επιφανείς περιοχές της επιστήμης.

Η λεπτίνη προέρχεται από την ελληνική λέξη «λεπτός», είναι πεπτίδιο 143 αμινοξέων προϊόν του LEP γονιδίου, από τα αρχικά της λέξης λεπτίνη (στη βιβλιογραφία αναφέρεται και με την ονομασία *ob* από το «*obesity*» που σημαίνει «παχυσαρκία», ονομασία που είναι παλαιότερη αλλά συνεχίζει να χρησιμοποιείται στη βιβλιογραφία) με αλληλουχία DNA που περιλαμβάνει περισσότερες από 15,000 βάσεις και τρία εξόνια που χωρίζονται με δύο εσώνια. Το γονίδιο της λεπτίνης εδράζεται στο χρωμόσωμα 7q31.3 στον άνθρωπο και στο χρωμόσωμα 4q32 στα βοοειδή (Stone et.al., 1996). Η λεπτίνη είναι πρωτεΐνη 16kb με χρόνο ημιζωής 90 λεπτά της ώρας, ακολουθεί νυχθημερήσιο ρυθμό έκκρισης με έντονα εκκρινικά κύματα και τα μέγιστα επίπεδα στο 24ωρο καταγράφονται μεταξύ 24:00—02:00 ωρών στον άνθρωπο ενώ στα μηρυκαστικά δεν έχει παρατηρηθεί νυχθημερήσιος ρυθμός έκκρισης.

Βρίσκεται στη κυκλοφορία του αίματος με δύο μορφές:

- α) τη συνδεδεμένη με πρωτεΐνη σε ποσοστό στον άνθρωπο που φαίνεται ότι διαφέρει μεταξύ λεπτόσωμων(45%) και παχύσαρκων (20%) ατόμων και
- β) την ελεύθερη μορφή. Μια επιπρόσθετη δεξαμενή λεπτίνης είναι το μόριο το συνδεδεμένο πάνω στους υποδοχείς της στους ιστούς στόχους, προσφέροντας σταθερά επίπεδα της ορμόνης στους ιστούς. (Ahima, 2000, Licinio 1998, Sinha 1996).

Ο ρόλος της λεπτίνης είναι πλειοτροπικός. Οι δράσεις της αφορούν σε ποικίλους βιολογικούς μηχανισμούς, όπως στην αναπαραγωγή (έναρξη της ήβης), στην ανοσολογική και φλεγμονώδη απόκριση, στην αιμοποίηση, στην αγγειογένεση, στο

σχηματισμό οστού και στην επούλωση τραυμάτων. Σημαντικότερη, όμως, θεωρείται η δράση της ως μηχανισμού ανατροφοδότησης που δίνει το σήμα σε καίρια ρυθμιστικά κέντρα του εγκεφάλου για την αναστολή της πρόσληψης τροφής και τη ρύθμιση του σωματικού βάρους και της ενεργειακής ομοιόστασης.

Η λεπτίνη παράγεται στον λιπώδη ιστό, όπως και άλλες ορμόνες και ειδοποιεί τον εγκέφαλο για το ποσό και την καταλληλότητα των θρεπτικών συστατικών του λιπώδους ιστού. (Ahima *et al.* , 1996)

Όσο περισσότερο λίπος υπάρχει στο σώμα τόσο περισσότερη λεπτίνη βρίσκεται στο αίμα, στέλλοντας το σήμα στον εγκέφαλο ότι πρέπει να μειωθεί η πρόσληψη τροφής και να αυξηθεί η κατανάλωση ενέργειας, ρυθμίζοντας την ισορροπία ενέργειας και βάρους στα ζώα και στον άνθρωπο.

Το σήμα της λεπτίνης παραλαμβάνεται από τον υποθάλαμο του εγκεφάλου που ρυθμίζει το ενδοκρινικό και το αυτόνομο νευρικό σύστημα, παράγοντας στους νευρώνες του (νευρικά κύτταρα) μόρια που λέγονται νευροπεπτίδια τα οποία στέλνει εκτός του εγκεφάλου για να σταματήσουν την όρεξη και να διατηρηθεί η ισορροπία μεταξύ προσλαμβανόμενης ενέργειας από τη τροφή και κατανάλωσής της με τις δραστηριότητες του σώματος.

Η λεπτίνη, δρώντας στους υποδοχείς της στον υποθάλαμο, διεγείρει την παραγωγή ανορεξιογόνων πεπτιδίων, όπως η προοπιομελανοκορτίνη (POMC) και τα ρυθμιζόμενα από την κοκαΐνη και αμφεταμίνη μετάγραφα (CART), ενώ αναστέλλει την παραγωγή ορεξιγόνων πεπτιδίων, όπως το νευροπεπτίδιο Y (NPY) και η Agouti - related protein (AgRP).

Θεωρείται λοιπόν ο συνδετικός κρίκος μεταξύ των αποθηκών ενέργειας του οργανισμού (λιπώδης ιστός) και της αναπαραγωγικής δραστηριότητας σε επίπεδο υποθαλάμου.

Το ομοζύγωτο ob/ob ποντίκι είναι παχύσαρκο και στείρο και η παχυσαρκία καθώς και η στειρότητα μπορούν να θεραπευτούν με χορήγηση ανθρώπινης ανασυνδυασμένης λεπτίνης (Chehab *et al.*, 1996).

Η νηστεία προκαλεί μείωση στην έκκριση της LH, η οποία μπορεί να αποκατασταθεί με χορήγηση λεπτίνης σε τρωκτικά και πρωτεύοντα (Ahima *et al.*, 1996, Finn *et al.*, 1998, Nagatani *et al.*, 1998).

Η ανεπάρκεια λεπτίνης σε άνθρωπο και τρωκτικά έχει συσχετιστεί με την παχυσαρκία η οποία μπορεί να διορθωθεί με εξωγενή χορήγηση λεπτίνης. (Campfield *et al.*, 1995, Farooqi *et al.*, 2002).

Συγγενής ανεπάρκεια λεπτίνης έχει συσχετιστεί με υπογοναδισμό που οφείλεται σε ανεπάρκεια των γοναδοτροπινών και στειρότητα. Οι αναπαραγωγικές πλευρές του φαινοτύπου της ανεπάρκειας λεπτίνης ανθρώπου και ποντικού μπορούν να αποκατασταθούν με χορήγηση λεπτίνης αποδεικνύοντας τον ρόλο που διαδραματίζει η λεπτίνη σε αυτή τη μορφή του υπογοναδισμού.

(Chehab *et al.*, 1996, Mounzih *et al.*, 1997, Barash *et al.*, 1996).

Μία απλή μετάλλαξη της αργινίνης στη βάση του γονιδίου της λεπτίνης στη τριπλέτα νουκλεοτιδίων 105, όπως παρατηρήθηκε στο C57BL/6J του ob/ob ποντικού, οδηγεί στη παραγωγή της ανενεργούς μορφής της λεπτίνης. (Zhang Y, 1994).

Το γενετικά παχύσαρκο ποντίκι παρουσιάζει στειρότητα, υπερινσουλιαιμία, υπεργλυκαιμία και δυσλειτουργία στη λειτουργία του θυρεοειδούς αδένου. (Dubuc 1976). Θεραπεία του ob/ob ποντικού με ανασυνδυασμένη λεπτίνη μειώνει το σωματικό βάρος και τη ποσότητα του λιπώδους ιστού. (Chehab *et al.*, 1996) Χορήγηση λεπτίνης αποκαθιστά τη γονιμότητα και θεραπεύει την υπερινσουλιαιμία και την υπεργλυκαιμία του ob/ob ποντικού. (Chehab *et al.*, 1996, Barash *et al.*, 1996). Όμως, ο υποσιτισμός από μόνος του, αποδεικνύεται ανεπαρκής για την αποκατάσταση της γονιμότητας είτε στο θηλυκό είτε στο αρσενικό ob/ob ποντίκι αποδεικνύοντας ότι η παχυσαρκία δεν είναι από μόνη της αιτία στειρότητας και ότι η λεπτίνη φαίνεται να διαδραματίζει σπουδαίο ρόλο για τη φυσιολογική αναπαραγωγική λειτουργία. (Chehab *et al.*, 1996, Mounzih *et al.*, 1997).

Παχύσαρκοι επίμυες με υπερλεπτιναιμία εμφανίζουν χαμηλές αιχμές LH και προλακτίνης συγκριτικά με εκείνους που έχουν φυσιολογικό βάρος και επίπεδα λεπτίνης. (Watanobe *et al.*, 2001). Εγκεφαλική χορήγηση λεπτίνης αναστέλει τη πρόσληψη τροφής και διεγείρει τη παλμική έκκριση LH σε διάφορα είδη (Walczevska *et al.*, 1999, Nagatani *et al.*, 2000, Henry *et al.*, 2001a, Miller *et al.*, 2002). Όμως, δεν έχει παρατηρηθεί ανταπόκριση της συχνότητας παλμών LH σε χορήγηση λεπτίνης (Henry *et al.*, 1999, Blache *et al.*, 2000b, Morrison *et al.*, 2001).

Έρευνες σε τρωκτικά και άνθρωπο αναδεικνύουν ότι η λεπτίνη διαδραματίζει περισσότερο επιτρεπτικό παρά διεγερτικό ρόλο στη βραχυπρόθεσμη και μακροπρόθεσμη ρύθμιση της απελευθέρωσης της GnRH και κατ'επέκταση της LH. (Cheung *et al.*, 1997, Casanueva & Dieguez 1999, Ahima & Flier 2000).

Στο αρσενικό πρόβατο έχει παρατηρηθεί ότι συμπλήρωμα πτητικών λιπαρών οξέων το οποίο οδηγεί σε αύξηση της συχνότητας παλμών της LH δεν συνοδεύτηκε και από αύξηση στη συγκέντρωση της λεπτίνης στο πλάσμα του αίματος. Στον ενήλικο οργανισμό η λεπτίνη θεωρείται ότι διαδραματίζει πρωταρχικό ρόλο στην αλληλεπίδραση του αρνητικού ενεργειακού ισοζυγίου και της ανταπόκρισης επιβίωσης. Οι συγκεντρώσεις λεπτίνης στον ορό, είναι σε αναλογία με το ολικό σωματικό λίπος. Παρόλα αυτά όμως, υψηλές συγκεντρώσεις λεπτίνης σε παχύσαρκα άτομα δηλώνουν την θεωρία της *αντίστασης στη λεπτίνη*. Δηλαδή ενώ θα αναμενόταν υψηλά επίπεδα λεπτίνης να προκαλούν μείωση στη πρόσληψη τροφής, εντούτοις εμφανίζονται υψηλές συγκεντρώσεις και σε καταστάσεις παχυσαρκίας. (Caro *et al.*, 1996).

Φαίνεται ότι μία ενδοκυτταρική πρωτεΐνη, ο καταστολέας της μεταβίβασης σήματος κυτοκινών 3 (SOCS-3), ρυθμίζει την αντίσταση στη λεπτίνη δρώντας μέσω του μονοπατιού JAK-2 εμποδίζοντας την ενδοκυττάρια μεταβίβαση του μηνύματός της. (Bjorbaek *et al.*, 2000, Bjorbaek *et al.*, 1999).

Μελετήθηκε στα ποντίκια η πρωτεΐνη SH2-B, και βρέθηκε ότι αυξάνει την ευαισθησία του σώματος στη λεπτίνη. Στον μηχανισμό αυτόν η SH2-B αντιδρά με μίαν άλλη επίσης πρωτεΐνη, την JAK-2 η οποία ρυθμίζει την αντίδραση των κυττάρων σε πολλές ορμόνες, συμπεριλαμβανομένης της λεπτίνης. Σημειώνεται ακόμη ότι σε ποντίκια χωρίς το γονίδιο sh2-b της SH2-B μειώνεται η ευαισθησία των νευρώνων του υποθαλάμου στη λεπτίνη και γι' αυτό τα ποντίκια οδηγούνται στην πολυφαγία και την παχυσαρκία. Δηλαδή εκτός της λεπτίνης και δύο άλλες πρωτεΐνες είναι αναγκαίες για τη διατήρηση του φυσιολογικού ενεργειακού μεταβολισμού και του βάρους. Γι' αυτό εξωγενής χορήγηση λεπτίνης σε ποντίκια χωρίς το sh2-b γονίδιο δεν επηρεάζει την κατανάλωση τροφής ούτε το βάρος τους, όπως κάνει στα φυσιολογικά ποντίκια. (Ren *et al.*, 2005)

Η λειτουργία της λεπτίνης στην παχυσαρκία συγκρινόμενη με το ρόλο που διαδραματίζει κατά τον υποσιτισμό οδηγεί στο συμπέρασμα ότι η λεπτίνη είναι πιο

αποτελεσματική ως κεντρικό σήμα του ενεργειακού ελλείμματος παρά της δαπάνης ενέργειας. (Havel, 2001)

Μειωμένα επίπεδα λεπτίνης αναμένεται να οδηγούν στην αύξηση πρόσληψης τροφής και διατήρησης της ενέργειας, παραδείγματος χάρη, με μείωση της θερμογένεσης ή τερματισμό της αναπαραγωγικής λειτουργίας. (Chehab *et al.*, 1996, Mounzih *et al.*, 1997).

Έρευνα στα Σύρια ινδικά χοιρίδια αποκάλυψε ότι η θετική επίδραση της λεπτίνης στον οιστρικό κύκλο κατά τη διάρκεια νηστείας αναστέλλεται από τον ανταγωνισμό με ανταγωνιστή γλυκόζης (2DG). (Schneider *et al.*, 1998).

Προκύπτει λοιπόν η πιθανότητα ότι ο μηχανισμός που υποβόσκει στην ικανότητα της λεπτίνης να αποκαθιστά την αναπαραγωγική δραστηριότητα στη διάρκεια της νηστείας, να οφείλεται στην ικανότητά της να βελτιώνει τη διαθεσιμότητα της γλυκόζης.

Σε αυτή την υπόθεση συνηγορεί και το ότι εξωγενής χορήγηση λεπτίνης αδυνατεί να αποκαταστήσει την έκκριση LH όταν αυτή η έκκριση έχει μειωθεί λόγω μειωμένης διαθέσιμης γλυκόζης. Ίσως λοιπόν η λεπτίνη να δρα κεντρικά σε κάποιον αισθητήρα της γλυκόζης προκειμένου να διεγείρει τη πρόσληψη γλυκόζης. Γνωρίζουμε ότι η ινσουλίνη αυξάνει τη μεταφορά γλυκόζης στα κύτταρα μέσω ανάκτησης του εξαρτώμενου από την ινσουλίνη μεταφορέα γλυκόζης (GLUT4). (Livingstone *et al.*, 1995). Αν ο μεταφορέας GLUT4 ανακτάται και από τη λεπτίνη τότε παρέχει ένα μηχανισμό για την ευαισθησία στην ινσουλίνη ο οποίος μπορεί να αυξάνεται από τη λεπτίνη. (Sivitz *et al.*, 1997).

Με παρόμοιο τρόπο, η λεπτίνη μπορεί να επηρεάσει και τους άξονες υποθαλάμου- υπόφυσης- θυρεοειδούς και υποθαλάμου- υπόφυσης- επινεφριδίων. Στην προκειμένη περίπτωση, η υπολεπτιναιμία σχετίζεται με αυξημένα επίπεδα γλυκοκορτικοειδών και χαμηλά επίπεδα θυρεοειδικών ορμονών. Πάντως, κρίνεται απαραίτητη η ανάγκη επιβεβαίωσης της συγκεκριμένης υπόθεσης από κλινικές μελέτες μεγαλύτερης εμβέλειας (Blüher S 2004).

Η νηστεία (Ahima *et al.*, 1996) και η στέρηση της γλυκόζης (Sun *et al.*, 1979) είναι μηχανισμοί καταπόνησης που οδηγούν σε αύξηση των επιπέδων κορτικοστερόνης. Από τον διεγερμένο άξονα υποθάλαμος – υπόφυση – επινεφρίδια η απελευθερωτική ορμόνη των κορτικοειδών CRH εμπλέκεται στη καταστολή της παλμικής έκκρισης της LH η

οποία οφείλεται στη νηστεία. (Maeda *et al.*, 1994). Σε μελέτες *in vitro* έχει παρατηρηθεί ότι η λεπτίνη μειώνει την απελευθέρωση CRH που προκλήθηκε από υπογλυκαιμία σε ιστό υποθαλάμου. (Heiman *et al.*, 1997).

Η λεπτίνη αναστέλλει την έκκριση του νευροπεπτιδίου Y (NPY) στο τοξοειδή πυρήνα του υποθαλάμου και αυξάνει την απελευθέρωση της απελευθερωτικής ορμόνης των κορτικοστεροειδών (CRH) στον παρακοιλιακό πυρήνα του υποθαλάμου. Άλλα μονοπάτια που εμπλέκονται σε ανταπόκριση του σήματος της λεπτίνης είναι το σύστημα του παρόμοιου με τη γλυκαγόνη πεπτιδίου-1 (GLP-1), το σύστημα της προ-οπιομελανοκορτίνης (POMC), οι νευρώνες που εκφράζουν ορεξίνες, η γαλανίνη και το σύστημα της μεταγραφής κοκαΐνης – αμφεταμίνης (CART). (Stephens *et al.*, 1995, Schwartz *et al.*, 1996, Kalra *et al.*, 1999).

2.3.2.1. Παραγωγή και ρύθμιση της έκκρισης της λεπτίνης

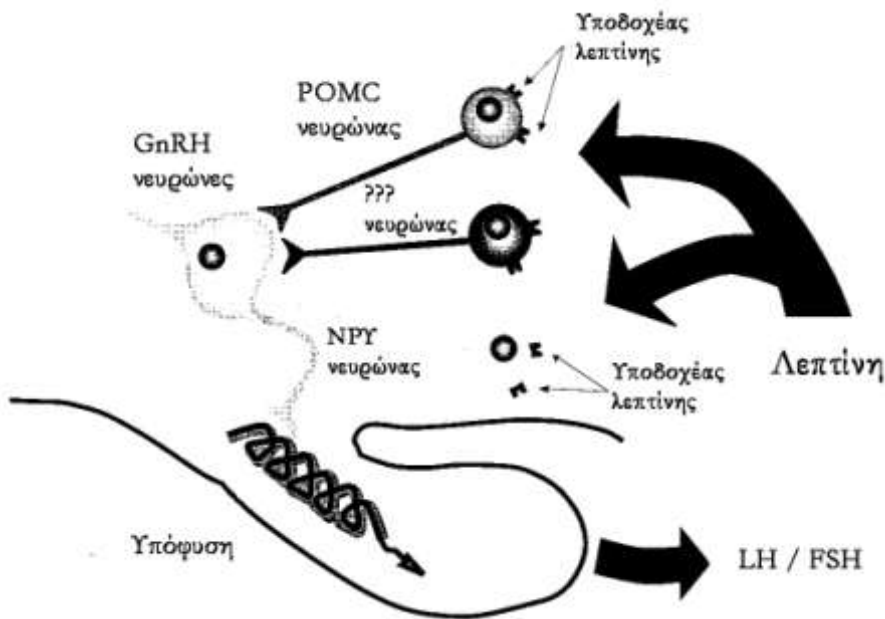
Κύριος τόπος σύνθεσης της λεπτίνης είναι τα λιποκύτταρα του λευκού λιπώδους ιστού. Υπάρχει θετική συσχέτιση μεταξύ του εκφραζόμενου mRNA του LEP (ob)Ob γονιδίου και των επιπέδων της λεπτίνης του πλάσματος.

Εκτός του λιπώδους ιστού έχουν βρεθεί και άλλες θέσεις παραγωγής της λεπτίνης όπως ο θόλος του στομάχου (σύμφωνα με δεδομένα σε επίμυες), οι σκελετικοί μύες (Margetic *et al.*, 2002), η υπόφυση (Yonekura *et al.*, 2003), η μήτρα και ο πλακούντας (Bonnet *et al.*, 2002). Τέλος εντυπωσιακά είναι τα δεδομένα που υποστηρίζουν τη τοπική παραγωγή της λεπτίνης από το κεντρικό νευρικό σύστημα. Το παραγόμενο από τα λιποκύτταρα μόριο δεν αποθηκεύεται αλλά υπό την επίδραση των διαφόρων ερεθισμάτων προκαλείται άμεση σύνθεση και έκκρισή του (*de novo synthesis*) στην κυκλοφορία. Τα επίπεδα λεπτίνης μεταβάλλονται αναλογικά με τη λήψη της τροφής.

Στα ποντίκια η αύξηση των επιπέδων της παρατηρείται αμέσως μετά τη λήψη της τροφής ενώ στους ανθρώπους η αύξηση αυτή παρατηρείται μετά τη παρέλευση διαστήματος δύο ή τριών ημερών. Παρόλες όμως τις διαφορές μεταξύ των ειδών προβάτου, τρωκτικού και ανθρώπου ως προς τη πέψη και απορόφηση της τροφής και τον ενεργειακό μεταβολισμό, η έκκριση της λεπτίνης εμφανίζει παρόμοια αύξηση σε ένδειξη ανταπόκρισης σε βραχυπρόθεσμη συμπληρωματική διατροφή. Αντίθετα ως

προς το χρόνο της ανταπόκρισης, σε περίπτωση νηστείας, η μείωση των επιπέδων της λεπτίνης καταδεικνύεται άμεσα.

Ως εκ τούτου είναι προφανές ότι οι μεταβολές αυτές των επιπέδων της δεν αντανακλούν μεταβολές της μάζας των λιποκυττάρων αλλά επιδράσεις διαφόρων άλλων παραμέτρων που τροποποιούν την έκφραση του LEP γονιδίου.



Εικόνα 3. Σχηματική παράσταση θεωρίας που αναφέρεται στις δράσεις της λεπτίνης στον νευροενδοκρινικό αναπαραγωγικό άξονα. Η λεπτίνη δρα στους νευρώνες του υποθαλάμου που εκφράζουν τον υποδοχέα της (Ob-R ή LEP-R). Επειδή δεν ανιχνεύτηκαν ποσά mRNA Ob-R στους νευρώνες της GnRH δεν θεωρούνται ότι αποτελούν άμεσους στόχους της λεπτίνης. Οι νευρώνες που περιέχουν mRNA POMC και NPY εκφράζουν επίσης και mRNA Ob-R, και το mRNA των POMC και NPY ρυθμίζεται από τη λεπτίνη. Μεταβολές στη σύνθεση ή και στην απελευθέρωση αυτών ή άλλων υποθαλαμικών πεπτιδίων ενδέχεται να επιδρούν στους νευρώνες της GnRH και να επηρεάζουν την απελευθέρωση της απελευθερωτικής ορμόνης των γοναδοτροπινών. (Cunningham M, Clifton D, Steiner R, 1999)

Η λεπτίνη φαίνεται λοιπόν ότι διαδραματίζει το ρόλο του αγγελιοφόρου προς τον εγκέφαλο για τις συνθήκες της ενεργειακής κατάστασης του οργανισμού την εκάστοτε συγκεκριμένη στιγμή.

2.3.2.2. Υποδοχείς λεπτίνης και είσοδός της στον εγκέφαλο

Ο υποδοχέας της λεπτίνης (OB-R) είναι μια μεμβρανική πρωτεΐνη που ανήκει στην gp 130 οικογένεια υποδοχέων κυτταροκινών τάξης I. Υπάρχουν έξι ισομορφές υποδοχέων της λεπτίνης LEP (ob) R των οποίων η ονοματολογία είναι LEP (ob) -R (a,b,c,d,e,f) και ανήκουν στην υπερομάδα των υποδοχέων των κυτταροκινών της τάξης I (IL-6, LIF).(Ahima *et al.*, 2000).

Η ενδοκυττάρια μεταβίβαση του μηνύματος γίνεται κυρίως διαμέσω της ενεργοποίησης του συστήματος των JAK2-STAT3 κινασών ενώ στη μεταβίβαση του μηνύματος εμπλέκονται το μονοπάτι της πρωτεϊνικής κινάσης (MARK) και η φωσφοινοσιτόλη-3 κινάση (PI-3K).

Η διαφορά μεταξύ των υποδοχέων βρίσκεται στο ενδοκυττάριο τμήμα μια που το εξωκυττάριο είναι πρακτικά το ίδιο. Μόνο ο δεύτερος υποδοχέας LEP (ob) Rb διαθέτει το πλήρες τμήμα της ενδοκυττάριας αλύσου που είναι απαραίτητη για την ενεργοποίηση των προαναφερθέντων ενδοκυττάριαων σταδίων μεταφοράς του μηνύματος. (Friedman *et al.*, 1998, Halaas *et al.*, 1997). Φαίνεται ότι αυτός είναι ο δραστικός υποδοχέας και αναφέρεται στη βιβλιογραφία επίσης και ως μακρύς λόγος του μήκους του μορίου του. Πρέπει να αναφερθεί και ο πέμπτος υποδοχέας LEP (Ob) Re ο οποίος έχει βραχύ μόριο στερούμενος ακόμη και του διαμεμβρανικού τμήματος, και αναφέρεται στη βιβλιογραφία και ως βραχύς. Υπάρχει ελεύθερος στη κυκλοφορία ως διαλυτός υποδοχέας και μάλλον συμμετέχει σαν πρωτεΐνη μεταφοράς της λεπτίνης στο κεντρικό νευρικό σύστημα. (Ahima *et al.*, 2000, Friedman *et al.*, 1998, Halaas *et al.*, 1997).

Τα κύρια ενδοκυττάρια μονοπάτια που ενεργοποιούνται μετά τη σύνδεση της λεπτίνης στους υποδοχείς της είναι το JAK/STAT μονοπάτι, το σηματοδοτικό μονοπάτι των MAP κινασών, της PI3K και της AMPK. Ο υποδοχέας της λεπτίνης δεν παρουσιάζει ενδογενή δράση κινάσης τυροσίνης και επομένως απαιτείται η σύνδεσή του με μόρια που έχουν τη συγκεκριμένη ενζυμική δράση, έτσι ώστε να επιτελέσει τη λειτουργία του. Οι Janus kinases (JAKs) και κυρίως η JAK2 έχουν την ικανότητα να συνδέονται στον ενεργοποιημένο υποδοχέα λεπτίνης. Η αυτοφωσφορύλιωση της JAK2 και

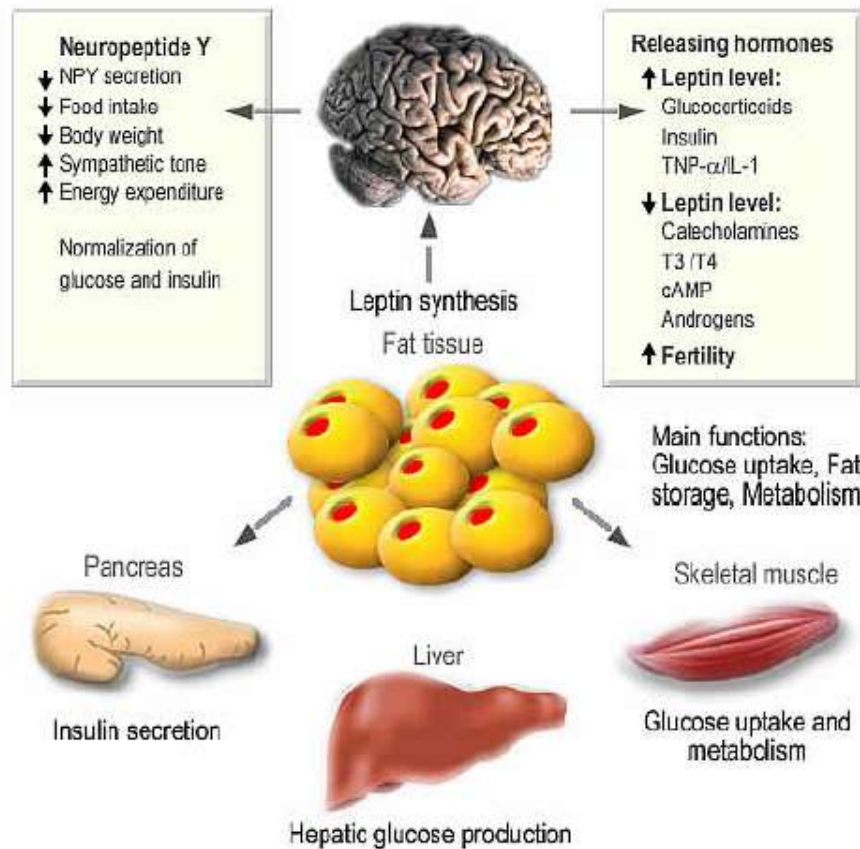
υπολειμμάτων τυροσίνης του. υποδοχέα έχει ως αποτέλεσμα την προσέλκυση στα φωσφορυλιωμένα υπολείμματα τυροσίνης σηματοδοτικών μορίων, όπως των STAT (signal transducers and activators of transcription) μεταγραφικών παραγόντων (κυρίως των STAT3, 5 και 6), πρωτεϊνικών υποστρωμάτων του υποδοχέα της ινσουλίνης (IRS), της SHP-2 τυροσινικής φωσφατάσης, όπως και μορίων των PI3K και Ras-Raf-MAPK σηματοδοτικών μονοπατιών. Η φωσφορυλίωση του STAT3 από την JAK οδηγεί σε διμερισμό του, είσοδο στον πυρήνα και επαγωγή της έκφρασης των γονιδίων της POMC (proopiomelanocortin) και του SOCS3 (suppressor of cytokine signaling-3), αλλά και σε καταστολή του γονιδίου του Agouti-related peptide.

Η πρωτεΐνη SOCS3 ασκεί αρνητική παλίνδρομη ρύθμιση στο μονοπάτι JAK/STAT, αναστέλλοντας τη φωσφορυλίωση των STAT3 και JAK2. Στη δράση αυτή της SOCS3 πιθανότατα οφείλεται και η αντίσταση στη δράση της λεπτίνης σε περίπτωση χρόνιας υπερλεπτιναιμίας και επομένως αυξημένα επίπεδα της πρωτεΐνης, λόγω σηματοδότησης μέσω του OB-R. Η τυροσινική φωσφατάση PTP1B (protein tyrosine phosphatase-1B) αποτελεί μία επιπλέον πρωτεΐνη που ασκεί αρνητική ρύθμιση στο μονοπάτι JAK/STAT (Harvey J 2007, Fruhbeck G 2006, Koerner A 2005). Από την άλλη πλευρά, το μονοπάτι των MAPKs μπορεί να ενεργοποιηθεί είτε μετά από φωσφορυλίωση του υποδοχέα από τη JAK2 είτε χωρίς να προηγηθεί η τελευταία. Πάντως, σημαντικό ρόλο για την ενεργοποίηση αυτού του μονοπατιού πιθανότατα παίζει η SHP-2.

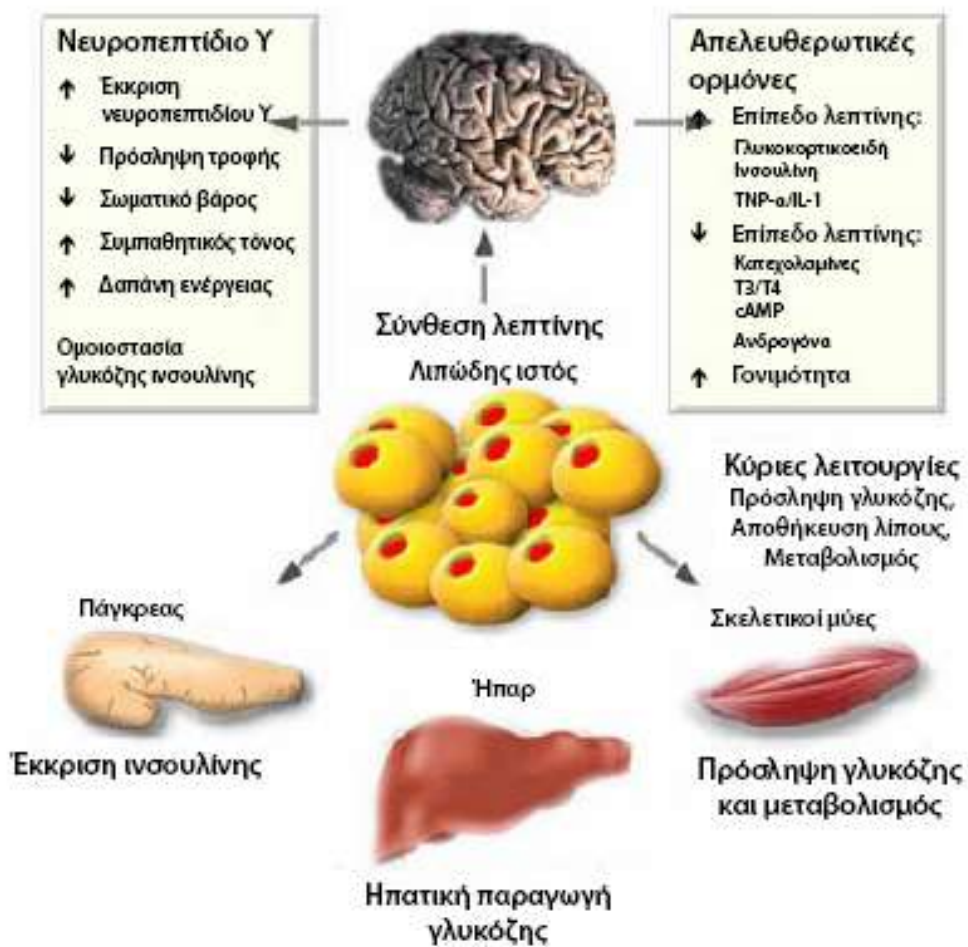
Η λεπτίνη μπορεί να οδηγήσει σε ενεργοποίηση των κινασών ERK1/2 (p44/42 MAPK), αλλά και της p38 MAPK και της JNK (c-Jun N-terminal kinase), οδηγώντας σε ποικίλες δράσεις, μεταξύ των οποίων η επαγωγή των NF-κB και TNF-α. Επίσης, ένα σημαντικό μονοπάτι που ενεργοποιεί η λεπτίνη είναι αυτό της PI3K. Μέσω της ρύθμισης του τελευταίου μονοπατιού, που αποτελεί κύριο σηματοδοτικό μονοπάτι της ινσουλίνης, φαίνεται ότι πραγματοποιείται η συνομιλία μεταξύ των δύο ουσιών. Η ενεργοποίηση του μονοπατιού της PI3K οδηγεί σε ενεργοποίηση της φωσφοδιεστεράσης PDE3B και ελάττωση του cAMP και του νευροπεπτιδίου Y, αλλά και σε άλλες δράσεις, μέσω της ενεργοποίησης των πρωτεϊνικών κινασών Akt/PKB (protein kinase B) και PKC (protein kinase C) (Fruhbeck G 2006).

Στον εγκέφαλο οι υποδοχείς της λεπτίνης είναι ευρύτατα διασπαρμένοι, σε περιοχές όπως ο θάλαμος, το χοριοειδές πλέγμα, ο κερκοφόρος πυρήνας καθώς και σε

υποθαλαμικές περιοχές όπως ο τοξοειδής πυρήνας, ο μεσοκοιλιακός και ο ραχιαίος κοιλιακός πυρήνας. Ειδικότερα, σημαντικός αριθμός μελετών έδειξε ότι ο OB-R εκφράζεται στο χοριοειδές πλέγμα, στις λεπτές μήνιγγες και στον υποθάλαμο. Λόγω αυτής του της εντόπισης έχει προταθεί ότι ο OB-R ίσως εμπλέκεται στη μεταφορά της λεπτίνης διαμέσω του αιματοεγκεφαλικού φραγμού. Στον υποθάλαμο ο OB-Rb κυρίως εκφράζεται, με ιδιαίτερα υψηλή έκφραση να σημειώνεται στον τοξοειδή πυρήνα



ον
αι
νη
ον
ου
ου
ου
ης
/.,



Εικόνα 4 Οι δράσεις της leptίνης στον υποθάλαμο και σε περιφερικά όργανα (Blüher S and Mantzoros CS 2006)

2.3.2.3. Νευροενδοκρινικοί ρόλοι της λεπτίνης

Η ύπαρξη του υποδοχέα της λεπτίνης στον άξονα υποθάλαμος – υπόφυση οδήγησε στη διατύπωση της θεωρίας ότι η λεπτίνη διαδραματίζει σπουδαίο ρόλο στην νευροενδοκρινολογία της αναπαραγωγής.

Σύμφωνα με αποτελέσματα διαφόρων μελετών σε καλλιέργειες ιστών υπόφυσης η λεπτίνη προάγει μία αύξηση που εξαρτάται από τη δόση στην απελευθέρωση των ορμονών LH(ωχρινοτρόπος ορμόνη), FSH(ωοθυλακιοτρόπος ορμόνη), PRL(προλακτίνη). (Yu *et al.*, 1997). Αυτά τα αποτελέσματα συμφωνούν με τις αναφορές στις οποίες χορήγηση εξωγενούς λεπτίνης αυξάνει τα επίπεδα LH του ορού σε υποσιτισμένα θηλυκά ποντίκια, εμποδίζει τη μείωση της παλμικής έκκρισης LH σε υποσιτισμένους επίμυες και αποκαθιστά την αιχμή της LH που προκαλείται από τα στεροειδή καθώς και την αιχμή της προλακτίνης σε θηλυκούς επίμυες που τελούν υπό νηστεία. (Ahima *et al.*, 1996, Nagatani *et al.*, 1998, Kohsaka *et al.*, 1999, Watanobe *et al.*, 1999)

Έρευνες που εξέτασαν τα αποτελέσματα της λεπτίνης στην έκκριση των γοναδοτροπινών στον υποσιτισμένο πίθηκο κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η λεπτίνη εμποδίζει τη καταστολή των επιπέδων LH και FSH στο πλάσμα του αίματος, η οποία οφείλεται στη νηστεία. (Finn *et al.*, 1998).

Σε *in vitro* μελέτες, μοσχεύματα του τοξοειδούς πυρήνα του υποθαλάμου και της μεσαίας περιοχής αύξησαν σημαντικά την έκκριση της GnRH μετά από τη χορήγηση λεπτίνης. (Yu *et al.*, 1997). Σε μελέτες που χρησιμοποίησαν μοσχεύματα από τον οπισθοχιασματικό πυρήνα του υποθαλάμου ενηλίκων επίμυων, η λεπτίνη αύξησε τη παλμική έκκριση της GnRH σε όλα τα στάδια του οιστρικού κύκλου στους θηλυκούς επίμυες αλλά όχι και στους αρσενικούς επίμυες παρουσιάζοντας φυλετικό διμορφισμό. (Parent *et al.*, 2000)

Χορήγηση λεπτίνης στη τρίτη κοιλία διεγείρει την απελευθέρωση LH και προλακτίνης ενώ χορήγηση αντιορού λεπτίνης σε θηλυκούς επίμυες στην ίδια περιοχή προωθεί τη μείωση συχνότητας παλμών της LH, διαταράσσει τη κυκλικότητα και καθυστερεί την είσοδο στην ήβη.

2.3.2.4. Λεπτίνη και είσοδος στην ήβη

Σύμφωνα με την υπόθεση του κρίσιμου σωματικού βάρους, όταν αυτό φτάσει σε κάποιο επίπεδο το ζώο εισέρχεται στη διαδικασία της ήβης.

Αν οι επίμυες είναι υποσιτισμένοι, η ήβη καθυστερεί αλλά αν έχουν πρόσβαση σε τροφή αυξάνοντας το βάρος τους, εισέρχονται στην ήβη. (Yu *et al.*, 1997).

Εξωγενής χορήγηση λεπτίνης προάγει την είσοδο στην ήβη στο φυσιολογικό θηλυκό ποντίκι (Chehab *et al.*, 1997, Ahima *et al.*, 1997) και σε φυσιολογικούς περί την ήβη θηλυκούς επίμυες (Cheung *et al.*, 1997). Λόγω αυτού του φαινομένου διατυπώθηκε η εικασία ότι η ήβη εισέρχεται όταν τα αποθέματα λίπους φτάσουν σε κάποιο επίπεδο, αυξάνοντας έτσι την απελευθέρωση λεπτίνης από τα κύτταρα του λιπώδους ιστού στη κυκλοφορία του αίματος.

Η λεπτίνη λοιπόν ίσως να δρα στα κύτταρα του υποθαλάμου προκειμένου να διεγείρει την απελευθέρωση LHRH, προκαλώντας δηλαδή την έκκριση των γοναδοτροπινών.

Η επακόλουθη απελευθέρωση των FSH, LH διεγείρει την έκκριση των στεροειδών των γονάδων που προάγουν την ανάπτυξη του αναπαραγωγικού συστήματος και εισάγουν τον οργανισμό στη διαδικασία της ήβης.

Όμως, διάφορες μελέτες (Plant *et al.*, 1997, Urbanski *et al.*, 1998, Mann *et al.*, 2000) έδειξαν αντικρουόμενα αποτελέσματα με τα οποία φαίνεται ότι δεν επέρχεται η είσοδος στην ήβη με την αύξηση των επιπέδων λεπτίνης στη κυκλοφορία του αίματος, στους αρσενικούς Rhesus πιθήκους.

Η αναζήτηση του ρόλου που διαδραματίζει η λεπτίνη για την είσοδο στην ήβη προέκυψε μετά από τις παρατηρήσεις ότι το στείρο ποντίκι με ανεπάρκεια λεπτίνης μπορεί να αποκαταστήσει τη γονιμότητά του με χορήγηση λεπτίνης καθώς και από το γεγονός ότι σε περί την ήβη ποντίκια ακόμα και σε μικρές δόσεις χορήγηση λεπτίνης δεν προκαλεί μείωση στο σωματικό βάρος. Παρόλα αυτά όμως, το πλεονέκτημα στην αναπαραγωγική ωρίμανση δεν μπορεί να επιτευχθεί σε φυσιολογικούς περί την ήβη επίμυες οι οποίοι είχαν χαμηλά επίπεδα λεπτίνης στο πλάσμα του αίματος.

Δεδομένου των αντικρουόμενων αποτελεσμάτων στη βιβλιογραφία (Chehab *et al.*, 1997, Mann *et al.*, 2000, Cunningham *et al.*, 1999) είναι πιθανό η λεπτίνη να δρα ως επιτρεπτικός παράγοντας εισόδου στην ήβη διότι, αν και απαιτούνται υψηλά επίπεδα

κυκλοφορούσης λεπτίνης για την διαδικασία της ήβης, η λεπτίνη δεν επαρκεί για να προκαλέσει την είσοδο στην ήβη.

Τα μηρυκαστικά ανταποκρίνονται συγκριτικά με τα μονογαστρικά σε μικρότερο βαθμό στις βραχυπρόθεσμες μεταβολές της πρόσληψης ενέργειας (Zieba *et al.*, 2005).

Υποσιτισμός για μεγάλο χρονικό διάστημα, μειώνει τη συχνότητα παλμών της LH σε αμνούς και τις κυκλοφορούσες στο αίμα συγκεντρώσεις της LH σε αμνάδες. (Henry *et al.*, 2000). Προβατίνες σε νηστεία που προηγουμένως διατρέφοντο κανονικά ανταποκρίνονται άμεσα στη λεπτίνη ενώ προβατίνες που υφίστανται μακροχρόνιο υποσιτισμό καθώς και στέρηση θρεπτικών συστατικών δεν ανταποκρίνονται στη λεπτίνη με αύξηση της έκκρισης της LH. (Henry *et al.*, 2004). Έχει παρατηρηθεί αδυναμία της λεπτίνης να αυξήσει τις κυκλοφορούσες συγκεντρώσεις LH σε βοοειδή και πρόβατα που είχαν διατραφεί κατά βούληση καθώς και σε κυτταροκαλλιέργειες μοσχευμάτων μηρυκαστικών που είχαν διατραφεί κατά βούληση, δίχως όμως να έχει διευκρινιστεί πλήρως η αιτία αυτού του φαινομένου. (Henry *et al.*, 1999, Maciel *et al.*, 2004, Morrison *et al.*, 2002, Amstalden *et al.*, 2005). Οι Barker – Gibb & Clarke το 1996 έδειξαν ότι οι συγκεντρώσεις στο πλάσμα LH, FSH ανάμεσα αδύνατα και ευτραφή πρόβατα δεν ήταν στατιστικά σημαντικά διαφορετικές ύστερα από σταθερή διατροφή είτε κατά βούληση είτε περιορισμένη για 16 μήνες. (Barker- Gibb & Clarke, 1996). Φαίνεται ότι η λεπτίνη διεγείρει τον άξονα υποθάλαμος – υπόφυση κυρίως στις περιπτώσεις υποσιτισμένων ζώων με τρόπο εξαρτώμενο της δόσης.

Η διεγερτική ιδιότητα της λεπτίνης λοιπόν στην έκκριση της LH στο πρόβατο φαίνεται να περιορίζεται σε περιόδους υποσιτισμού.

Οι Grauz- Gumowski έχουν παρατηρήσει ότι η λεπτίνη προωθεί την είσοδο στην ήβη σε θηλυκούς επίμυες που έχουν υποστεί καθυστέρηση στην ανάπτυξή τους ενώ οι Cheung *et al.*, έχουν αναφέρει ότι η λεπτίνη δεν προάγει την αναπαραγωγική ωρίμανση σε φυσιολογικά αναπτυσσόμενους επίμυες παρά μόνο εμποδίζει μερικώς τα αρνητικά αποτελέσματα του υποσιτισμού στο χρόνο της αναπαραγωγικής ωρίμανσης. (Grauz- Gumowski *et al.*, 1998, Cheung *et al.*, 1997).

Εάν εμποδιστεί η γλυκόζη και η οξειδωση των λιπιδίων, η ενδοεγκεφαλική χορήγηση λεπτίνης δεν μπορεί να εμποδίσει την είσοδο σε άνοιστρη περίοδο που είναι συνέπεια του υποσιτισμού στα Σύρια ινδικά χοιρίδια υποδηλώνοντας την ύπαρξη μιας

επικοινωνίας ανεξάρτητης από τη λεπτίνη ανάμεσα στον αναπαραγωγικό άξονα και στα ενεργειακά αποθέματα. Και γι αυτό το λόγο θεωρείται ότι ο ρόλος της λεπτίνης είναι επιτρεπτικός παράγοντας για την έναρξη της ήβης στα τρωκτικά αλλά όχι παράγοντας που μπορεί να καθορίσει και το χρόνο που θα συμβεί αυτή.

Έτσι η λεπτίνη φαίνεται ότι είναι ένας από τους επιτρεπτικούς παράγοντες για την είσοδο στην ήβη, της οποίας η παρουσία είναι μεν απαραίτητη αλλά όχι αρκετή για την έναρξη της αναπαραγωγικής ωρίμανσης των τρωκτικών.

Μοσχίδες που ακολούθησαν χρόνια κατά βούληση διατροφή (Maciel *et al.*, 1999) ή για μικρό χρονικό διάστημα, διετράφησαν με σιτηρέσιο συντήρησης ή υποσιτιστήκαν, δεν παρουσίασαν επιτάχυνση ωρίμανσης στο αναπαραγωγικά ώριμο πρότυπο έκκρισης των γοναδοτροπινών (Zieba *et al.*, 2004). Αυτές οι παρατηρήσεις είναι σύμφωνες με έρευνες σε αρσενικούς αμνούς (Jackson *et al.*, 2002) οι οποίες φανερώνουν ότι η λεπτίνη δεν μπορεί να οδηγήσει σε έκκριση της GnRH σε οργανισμούς που δεν μπορούν να ενεργοποιήσουν το σύστημα της GnRH εξαιτίας περιορισμών που οφείλονται στην ανάπτυξή τους.

Οι αλληλεπιδράσεις λεπτίνης με οιστρογόνα και ανδρογόνα υποδεικνύουν ότι ο ρόλος της λεπτίνης για την είσοδο στην ήβη, ρυθμίζεται από διαφορετικούς μηχανισμούς στα θηλυκά και στα αρσενικά και απαιτείται μεγαλύτερη διερεύνηση για την αποσαφήνιση αυτών των μηχανισμών. Η πεποίθηση ότι η λεπτίνη διαδραματίζει επιτρεπτικό ρόλο για την είσοδο στην ήβη στηρίζεται και από στοιχεία σύμφωνα με τα οποία η λεπτίνη εκφράζεται και στους σκελετικούς μύες.

(Tartaglia *et al.*, 1995, Wang *et al.*, 1998, Ghilardi *et al.*, 1996, Cioffi *et al.*, 1996).

Έτσι, η λεπτίνη μάλλον δρα ως δείκτης γενικότερης ευζωΐας του οργανισμού: ότι δηλαδή έχει αναπτυχθεί η απαιτούμενη μυϊκή μάζα (και ότι βρίσκεται στη φάση της αναβολικής ανάπτυξης) και ότι έχει αποταμιευτεί το απαιτούμενο σωματικό λίπος που να μπορεί να υποστηρίξει τη διαδικασία της ήβης αλλά και τις ενδεχόμενες συνέπειές της (όπως μια κυοφορία).

2.3.2.5. Θεωρίες που έχουν προταθεί σχετικά με τον τρόπο που η λεπτίνη μπορεί να επιδρά στην έκκριση της απελευθερωτικής ορμόνης των γοναδοτροπινών (GnRH)

1) Η λεπτίνη μπορεί να ρυθμίζει τις νευρωνικές δραστηριότητες της GnRH ανεξάρτητα από κάποιο άλλο μεταβολικό παράγοντα (ανεξάρτητη ρύθμιση).

Η ύπαρξη υποδοχέων λεπτίνης στον υποθάλαμο (Zamorano *et al.*, 1997) και η *in vitro* (Yu *et al.*, 1997) ικανότητα της λεπτίνης να διεγείρει την έκκριση GnRH από μοσχεύματα υποθαλάμου υποστηρίζουν αυτή τη θεωρία. Όμως, αναστολές της οξειδωσης της μεταβολικής ενέργειας καταστέλλουν την αναπαραγωγική λειτουργία μεγάλο χρονικό διάστημα πριν συμβούν μεταβολές στα αποθέματα λίπους (πηγή λεπτίνης). Αν και ο ανταγωνιστής γλυκόζης μπορεί να αρχίσει να εμποδίζει την ενδογενή λεπτίνη εντός τριάντα λεπτών της ώρας, επιπρόσθετη λεπτίνη δεν μπορεί να εμποδίσει την καταστολή της LH (άρα και της GnRH) (Wade *et al.*, 1996).

Φαίνεται λοιπόν ότι η δράση της λεπτίνης στην έκκριση GnRH διαμορφώνεται από ένα άλλο μεταβολικό σήμα, τη διαθεσιμότητα γλυκόζης. Έτσι διατυπώθηκε η θεωρία ότι η λεπτίνη δρα σε συνδυασμό με ένα ή περισσότερα μεταβολικά σήματα.

2) Η λεπτίνη σε συνδυασμό με κάποιο άλλο μεταβολικό σήμα όπως η διαθεσιμότητα γλυκόζης, να συγκλίνουν σε κάποιο κεντρικό παράγοντα προκειμένου να ρυθμίσουν την νευρωνική δραστηριότητα της GnRH (συγκλίνουσα ρύθμιση). (Foster and Nagatani, 1999)

Η διαθεσιμότητα της γλυκόζης μπορεί να αυξάνεται κατά τη διαδικασία της ήβης με διάφορους τρόπους, όπως με αύξηση των των συγκεντρώσεών της στη κυκλοφορία ή με αύξηση της μεταφοράς της στα κύτταρα, ή ακόμα και με μια αύξηση στο μεταβολισμό της. Από αυτές τις πιθανότητες υπάρχουν ορισμένες ενδείξεις που υποστηρίζουν την αύξηση μεταφοράς της γλυκόζης στα κύτταρα. Στο πρόβατο (Foster *et al.*, 2001) και στο πίθηκο (Steiner *et al.*, 1983) η ινσουλίνη αυξάνεται στη διάρκεια της ανάπτυξης.

Μία αύξηση στις περιφερικές συγκεντρώσεις λεπτίνης μπορεί να πυροδοτεί την αύξηση της γλυκόζης μέσω της πιθανής αύξησης της λεπτίνης στον μεταφορέα που εξαρτάται από την ινσουλίνη (GLUT4). Σύμφωνα με αυτή την υπόθεση, μπορεί η λεπτίνη να δρα

συνεργικά με τη διαθεσιμότητα της γλυκόζης για την είσοδο στην ήβη. Μπορεί επίσης να είναι δύο σήματα από μια πλειάδα σημάτων.

Η θεωρία αυτή δέχεται τη πιθανότητα ότι τα αποθέματα ενέργειας καθορίζουν τη διαθεσιμότητα ενέργειας (τρέχουσα ενέργεια) που θα επιτρέψει την έκκριση υψηλού επιπέδου GnRH. Όμως, δεν υπάρχουν μέχρι στιγμής πειραματικά δεδομένα που να υποστηρίζουν αυτή την υπόθεση.

3) Ρύθμιση που προκύπτει από διαδοχικά γεγονότα στα οποία η λεπτίνη να προάγει μεταβολές στη διαθεσιμότητα γλυκόζης διαδραματίζοντας σπουδαίο ρόλο στη μεταφορά πληροφοριών στους νευρώνες της GnRH. Σύμφωνα με αυτή τη θεωρία η λεπτίνη μπορεί να αλληλεπιδρά με άλλα μονοπάτια που ρυθμίζουν τη διαθεσιμότητα γλυκόζης, ίσως αυξάνοντας τη δράση της ινσουλίνης μέσω ρύθμισης των μεταφορέων γλυκόζης στους ανιχνευτές γλυκόζης, οι οποίοι μεταδίδουν τις πληροφορίες στο νευροεκκριτικό σύστημα της GnRH. (Foster and Nagatani 1999).

2.4. Ορεξιογόνα (NPY,AgRP) και Ανορεξιογόνα (POMC, CART) νευροπεπίδια

Νευρομεταβιβαστές λέγονται τα χημικά μόρια που συντίθενται σε νευρικά κύτταρα και αποθηκεύονται στις προσυναπτικές απολήξεις. Απελευθερώνονται μετά από διέγερση των κυττάρων που τους παράγουν και δρουν σε ειδικούς μετασυναπτικούς υποδοχείς στα κύτταρα-στόχους. (Χαδιώ 2006). Το νευροπεπίδιο Y (NPY) είναι ένας νευρομεταβιβαστής 36 αμινοξέων ευρέως διαδεδομένος στο περιφερικό αλλά και στο κεντρικό νευρικό σύστημα(Allen *et al.*, 1983, Danger *et al.*, 1990, Dumont *et al.*, 1992). Οι νευρώνες που το εκφράζουν στο τοξοειδή πυρήνα του υποθαλάμου εμπλέκονται σε πολλές φυσιολογικές λειτουργίες και διαδραματίζουν σπουδαίο ρόλο ως ρυθμιστές του μεταβολισμού και της διατροφικής συμπεριφοράς. Είναι ένας από τους πλέον ισχυρούς ορεξιογόνους παράγοντες που είναι γνωστοί σήμερα. Ανήκει στην οικογένεια των πεπτιδίων που περιλαμβάνει το παγκρεατικό πολυπεπίδιο (PP), το πεπίδιο YY (PYY)(Herzog *et al.*, 1995). Το νευροπεπίδιο Y εκφράζεται κυρίως στο τοξοειδή πυρήνα του υποθαλάμου (Allen *et al.*, 1983, Adam *et al.*, 1997).

Στα τρωκτικά, η στέρηση τροφής οδηγεί σε αύξηση των επιπέδων mRNA του NPY στο τοξοειδή πυρήνα και προάγει την ελευθέρωση του NPY στον παρακοιλιακό πυρήνα και *in vivo* και *in vitro* (Brady *et al.*, 1990, Kalra *et al.*, 1991, Dube *et al.*, 1992).

Στο πρόβατο, νηστεία ή χρόνιος υποσιτισμός οδηγεί στην αύξηση των επιπέδων mRNA του NPY (Adam *et al.*, 1997, 2002) καθώς και η γονιδιακή του έκφραση στο τοξοειδή πυρήνα είναι υψηλότερη στο πρόβατο με μικρότερο δείκτη σωματικής κατάστασης συγκριτικά με εκείνο με μεγαλύτερο δείκτη σωματικής κατάστασης. (Adam *et al.*, 2002).

Κεντρική χορήγηση NPY προκαλεί ισχυρή διατροφική ανταπόκριση ακόμα και σε ζώα που έχουν φτάσει στο σημείο κορεσμού και αν η χορήγηση του συνεχιστεί για μακροχρόνιο διάστημα οδηγεί στη παχυσαρκία. (Clark *et al.*, 1984, Stanley & Leibowitz 1984, Morley *et al.*, 1987, Miner *et al.*, 1990). Συνεπώς, συνεχιζόμενη ή επαναλαμβανόμενη χορήγηση του NPY οδηγεί σε παχυσαρκία υποδηλώνοντας πιθανή εμπλοκή του στη μακροπρόθεσμη ρύθμιση του σωματικού βάρους (Stanley *et al.*, 1986, Zarjevski *et al.*, 1993).

Κυκλοφορούσες ορμόνες όπως η ινσουλίνη και η λεπτίνη, μπορούν να επηρεάσουν το σύστημα του νευροπεπτιδίου Y. Οι νευρώνες NPY στο τοξοειδή πυρήνα του υποθαλάμου εκφράζουν υποδοχείς για τη λεπτίνη και την ινσουλίνη ενώ και οι ίδιοι αποτελούν στόχο των δύο αυτών ορμονών (της λεπτίνης και της ινσουλίνης).

Χορήγηση λεπτίνης αναστέλλει την κατανάλωση τροφής καθώς προκαλεί κεντρική χορήγηση του νευροπεπτιδίου Y (Smith *et al.*, 1996).

Η παραγωγή NPY επηρεάζεται από τα επίπεδα λεπτίνης, γεγονός που αποδεικνύεται από τη παρουσία υποδοχέων λεπτίνης στη πλειοψηφία των νευρώνων που περιέχουν το NPY στο τοξοειδή πυρήνα του υποθαλάμου. (Mercer *et al.*, 1996, Finn *et al.*, 1998).

Σε μελέτες όμως *in vitro*, η χορήγηση λεπτίνης δεν οδήγησε σε απελευθέρωση του NPY σε ιστό υποθαλάμου τρωκτικών (King *et al.*, 2000).

Εικάζεται ότι η λεπτίνη δρα περισσότερο στους υποδοχείς του NPY παρά στη πρόκληση ελευθέρωσής του, δράση η οποία πιθανότατα εξαρτάται από ορμονικά σήματα που απουσιάζουν στις *in vitro* μελέτες.

Κεντρική χορήγηση ινσουλίνης μείωσε τα επίπεδα mRNA του NPY τα οποία αυξήθηκαν με τη νηστεία (King *et al.*, 2000).

Το NPY μειώνει τη δαπάνη ενέργειας και διεγείρει λιπογενετικά ένζυμα του λιπώδους ιστού. Η έκφραση του νευροπεπτιδίου Y στους νευρώνες του τοξοειδούς πυρήνα του υποθαλάμου αυξάνεται λοιπόν κάτω από αντίξοες μεταβολικές συνθήκες.

Το NPY μπορεί να εμπλέκεται στο νευρικό δίκτυο που ενώνει το μεταβολισμό με την αναπαραγωγή, αν και οι αλληλεπιδράσεις ανάμεσα στο NPY και στον αναπαραγωγικό άξονα είναι πολύπλοκες. Έχουν περιγραφεί διεγερτικά αλλά και ανασταλτικά αποτελέσματα που εξαρτώνται από το περιβάλλον των στεροειδών ορμονών.

Σε θηλυκούς επίμυες και προβατίνες, κεντρική χορήγηση NPY αναστέλλει τη παλμική έκκριση GnRH/LH με παρουσία ή και απουσία από τη κυκλοφορία των στεροειδών των γονάδων (Mc Donald *et al.*, 1989, Mc Shane *et al.*, 1992).

Έχει περιγραφεί ισχυρή διέγερση της έκκρισης LH σε πρώιμα αναπαραγωγικά ζώα ενώ σε ευνουχισμένα ζώα, κεντρική χορήγηση NPY οδηγεί σε αναστολή της απελευθέρωσης LH. Σε μακροχρόνια χορήγηση του NPY προκαλείται έντονη αναστολή του άξονα των γοναδοτροπινών υποδηλώνοντας ότι η αυξημένη έκφραση του NPY που παρατηρείται κατά τη νηστεία ή σε αντίξοες μεταβολικές συνθήκες μπορεί να συμβάλλει στη αναστολή της τονικής παλμικής έκκρισης της απελευθέρωσης της GnRH.

Φαίνεται ότι τα στεροειδή των γονάδων αλληλεπιδρούν με το NPY για τη ρύθμιση της αναπαραγωγικής διαδικασίας. Περίπου ποσοστό 10% των νευρώνων του NPY στο τοξοειδή πυρήνα του υποθαλάμου εκφράζουν υποδοχείς οιστρογόνων σε επίμυ και πρόβατο (Sar *et al.*, 1990, Skinner & Herbison 1997).

Στους επίμυες, η γονιδιακή έκφραση του NPY στον υποθάλαμο, μειώθηκε ύστερα από ευνουχισμό και αυξήθηκε με χορήγηση τεστοστερόνης ή οιστραδιόλης (Sahu *et al.*, 1992, Urban *et al.*, 1993).

Στο ευνουχισμένο αρσενικό πρόβατο, η γονιδιακή έκφραση του NPY αυξάνεται με χορήγηση τεστοστερόνης κατά τη διάρκεια των ημερών μεγάλης φωτοπεριόδου. (Dobbins *et al.*, 2004). Φαίνεται λοιπόν ότι, η δράση του NPY στην έκκριση GnRH/LH εξαρτάται από τη δόση και επηρεάζεται από το φύλο καθώς και από γοναδοκτομή.

Το νευροπεπτίδιο Y ενεργοποιεί τουλάχιστον πέντε διαφορετικούς υποτύπους υποδοχέων οι οποίοι μπορούν να διακριθούν από τη συγγένεια που έχουν με τα πεπτίδια της οικογένειας NPY-PYY. Ανάμεσα σε αυτούς, οι Y1 και Y5 εμπλέκονται

στον έλεγχο της πρόσληψης τροφής και στη ρύθμιση του αναπαραγωγικού άξονα. (Blomqvist & Herzog, 1997, Gehlert, 1998, Gerald *et al.*, 1996, Kanatani *et al.*, 1996, Schafflauser *et al.*, 1997, Kalra *et al.*, 1992, Leupen *et al.*, 1997, Li *et al.*, 1999, Raposinho *et al.*, 1990).

Ο Y5 υποδοχέας εκφράζεται στους νευρώνες GnRH του υποθαλάμου (Campbell *et al.*, 2001) και η δράση του συγκεκριμένου ανταγωνιστή ειδικού για το Y5 εμποδίζει την αναστολή που επιφέρει το NPY στην έκκριση της LH *in vivo*. (Raposinho *et al.*, 1999).

Υποδοχείς τύπου 1 του νευροπεπτιδίου Y (Y1) έχουν βρεθεί πλησίον των κυττάρων της GnRH στη προοπτική περιοχή του υποθαλάμου υποδηλώνοντας την ύπαρξη φυσιολογικής σημασίας αυτού του υποδοχέα. (Li *et al.*, 1999, Kalra *et al.*, 1992).

Σε νεαρά τρωκτικά, υψηλή ενδογενής αύξηση του NPY αναστέλλει την φυσιολογική αναπαραγωγική ανάπτυξη. (Pralong *et al.*, 2000). Αυτή η τονική αναστολή μερικώς τουλάχιστον, προκαλείται μέσω του Y1 υποδοχέα. Αυτό το εύρημα συμφωνεί με τη παρατήρηση ότι οι GnRH νευρώνες εκφράζουν το Y1 *in vivo*. (Pralong *et al.*, 2000, El Majboubi *et al.*, 2000)

Συνδυάζοντας αυτές τις παρατηρήσεις ενισχύεται η υπόθεση σύμφωνα με την οποία η αναστολή του νευροενδοκρινικού αναπαραγωγικού άξονα που λαμβάνει χώρα κάτω από αντίξοες μεταβολικές συνθήκες καθορίζεται από μία αύξηση στην έκφραση του νευροπεπτιδίου Y στον υποθάλαμο.

(Brady *et al.*, 1990, Kalra *et al.*, 1991, Sahu *et al.*, 1988).

Κεντρική χορήγηση του NPY σε επίμυες που βρίσκονται στην περί την ήβη περίοδο, συνοδεύεται από μία καθυστέρηση στην ήβη παρόμοια με εκείνη που παρατηρείται σε περιπτώσεις υποσιτισμού. (Pralong *et al.*, 2000, El Majboubi *et al.*, 2000).

Επομένως, οι νευρώνες του νευροπεπτιδίου Y φαίνεται ότι είναι η νευροβιολογική πύλη που ελέγχει την είσοδο στην ήβη με το να την καθυστερήσει, όταν επικρατούν αντίξοες μεταβολικές συνθήκες.

Το Agouti-related Protein (AgRP) είναι ένα ορεξιογόνο νευροπεπτίδιο 132 αμινοξέων που εμπλέκεται στον έλεγχο του ενεργειακού ισοζυγίου και της αναπαραγωγής. (Ollmann *et al.*, 1997, Shutter *et al.*, 1997). Είναι πολύ ισχυρός ενδογενής ανταγωνιστής της α -μελανοχρωστικοτρόφου ορμόνης (α -MSH). Η έκφραση του AgRP γονιδίου διεγείρεται με τη νηστεία ή με τον χρόνιο υποσιτισμό σε τρωκτικά και

πρόβατο (Mizuno & Mobbs 1999, Henry *et al.*, 2001b, Adam *et al.*, 2002, Archer *et al.*, 2002b). Στο ευνουχισμένο αρσενικό πρόβατο, η έκφραση του AgRP στο τοξοειδή πυρήνα του υποθαλάμου είναι υψηλότερη σε ζώα με χαμηλό δείκτη σωματικής κατάστασης συγκριτικά με ζώα με υψηλό δείκτη σωματικής κατάστασης (Archer *et al.*, 2002b). Επειδή AgRP και NPY παράγονται από τους ίδιους νευρώνες, μηνύματα που επηρεάζουν τη σύνθεση του NPY και την απελευθέρωσή του, ενδεχομένως να επηρεάζουν και τη σύνθεση και ελευθέρωση του AgRP. Γενετικά παχύσαρκα ζώα, συμπεριλαμβανομένου και του ποντικού με ανενεργή μορφή λεπτίνης καθώς και του διαβητικού ποντικού, παρουσιάζουν αυξημένα επίπεδα mRNA AgRP. (Shutter *et al.*, 1997). Εξωγενής χορήγηση λεπτίνης μειώνει τη γονιδιακή έκφραση του AgRP στο φυσιολογικό αλλά και στο ποντίκι με ανενεργή μορφή λεπτίνης. (Shutter *et al.*, 1997). Επίσης, σε διαβητικούς επίμυες, η χορήγηση ινσουλίνης μειώνει τα υποθαλαμικά επίπεδα του mRNA του AgRP (Qu *et al.*, 2001). Κεντρική χορήγηση AgRP αυξάνει τη συγκέντρωση των γοναδοτροπινών στο πλάσμα του αίματος και την απελευθέρωση GnRH από μοσχεύματα υποθαλάμου επίμυων (Stanley *et al.*, 1999).

Το POMC είναι ένα ανορεξιογόνο πεπτίδιο και πρόδρομος της οικογένειας πεπτιδίων της μελανοκορτίνης η οποία περιλαμβάνει τα α - , β - και γ - MSH, και τα ενδογενή οπιοειδή και την β - ενδορφίνη (Mountjoy & Wong 1997). Οι μελανοκορτίνες είναι μια ομάδα πεπτιδικών ορμονών της υπόφυσης που περιλαμβάνει την επινεφριδιοφλοιοτρόπο ορμόνη ACTH, και την άλφα, βήτα και γάμμα μελανοχρωστικοτρόφο (MSH) που προέρχονται από τη προορμόνη προοπιομελανοκορτίνη. Οι υποδοχείς της μελανοκορτίνης είναι πέντε, από MC1 έως MC5. Οι MSH είναι μια ομάδα πεπτιδικών ορμονών που παράγονται από τον μεσαίο λοβό της υπόφυσης και διεγείρουν τη παραγωγή και απελευθέρωση της μελανίνης (μελανογένεση) από τα κύτταρα της μελανίνης στην επιδερμίδα και στο τρίχωμα της κεφαλής. Η MSH παράγεται από την υπόφυση και ελευθερώνεται στον εγκέφαλο διαδραματίζοντας ρόλους στην όρεξη και στην αναπαραγωγή.

Χορήγηση NPY αναστέλλει την απελευθέρωση του α -MSH και καταστέλλει τη γονιδιακή έκφραση του POMC στον τοξοειδή πυρήνα του υποθαλάμου. (Blasquez *et al.*, 1993, Garcia de Yebenes *et al.*, 1995). Τα επίπεδα mRNA του POMC αυξάνονται

με την υπερβολική κατανάλωση τροφής (Hagan *et al.*, 1999) αλλά μειώνονται με τη νηστεία ή τον υποσιτισμό (Brady *et al.*, 1990, Bergendahl *et al.*, 1992, Mizuno *et al.*, 1998).

Στις αμνάδες, χρόνιος υποσιτισμός εμποδίζει την έκφραση του γονιδίου POMC στο τοξοειδή πυρήνα του υποθαλάμου (McShane *et al.*, 1993) αλλά η νηστεία ή ο υποσιτισμός δεν είχαν κανένα αποτέλεσμα στη γονιδιακή έκφραση του POMC σε ευνουχισμένους κριούς και ωοθηκεκτομημένες προβατίνες. (Henry *et al.*, 2000, Adam *et al.*, 2002).

Το γενετικά παχύσαρκο ποντίκι (ob/ob & db/db) παρουσιάζει μειωμένα επίπεδα mRNA POMC στο τοξοειδή πυρήνα του υποθαλάμου (Mizuno *et al.*, 1998). Χορήγηση λεπτίνης αυξάνει τη γονιδιακή έκφραση του POMC σε επίμυες και ποντίκια με ανενεργή μορφή λεπτίνης αλλά όχι και στο διαβητικό ποντίκι. (Cheung *et al.* 1997, Schwartz *et al.*, 1997, Hakanson *et al.*, 1998). Χορήγηση ινσουλίνης σε επίμυες προκάλεσε αύξηση των επιπέδων mRNA του POMC στο τοξοειδή πυρήνα του υποθαλάμου (Kim *et al.*, 1999).

Χορήγηση τεστοστερόνης φαίνεται ότι μειώνει τη γονιδιακή έκφραση του POMC σε ευνουχισμένους κριούς. (Hileman *et al.*, 1996, Hileman *et al.*, 1998).

Σε άλλη όμως περίπτωση, τα επίπεδα mRNA του POMC έμειναν αμετάβλητα παρουσία ή απουσία οιστραδιόλης (Adam *et al.*, 2002).

Η μεταγραφή του νευροπεπτιδίου κοκαΐνης - αμφεταμίνης Cocaine – Amphetamine Related Transcript (CART) παρέχει ισχυρό ανορεξιογόνο σήμα στον έλεγχο της πρόσληψης τροφής και του ενεργειακού ισοζυγίου (Kristensen *et al.*, 1998, Lambert *et al.*, 1998) αν και υπάρχει και μία μελέτη σύμφωνα με την οποία εμφανίζει ορεξιογόνο ρόλο (Abbott *et al.*, 2001).

Η στέρηση τροφής οδήγησε σε μείωση της γονιδιακής έκφρασης του CART στον υποθάλαμο των επίμυων. (Kristensen *et al.*, 1998). Στο πρόβατο, νηστεία ή συμπληρωματική διατροφή δεν επηρεάζουν τα επίπεδα mRNA του CART στο τοξοειδή πυρήνα του υποθαλάμου, αλλά η γονιδιακή έκφραση του CART είναι χαμηλότερη σε κριούς με μικρό δείκτη σωματικής κατάστασης συγκριτικά με κριούς με υψηλό δείκτη σωματικής κατάστασης. (Adam *et al.*, 2002, Archer *et al.*, 2002b). Φαίνεται ότι το CART ελέγεται από τη λεπτίνη για τη ρύθμιση της πρόσληψης τροφής. Περιφερική

χορήγηση λεπτίνης σε παχύσαρκο ποντίκι προκαλεί την αύξηση των επιπέδων mRNA του CART (Kristensen *et al.*, 1998). Σε τρωκτικά στα οποία δεν πραγματοποιείται ορθή ενδοκυτταρική μεταβίβαση του μηνύματος της λεπτίνης, σχεδόν απουσιάζει mRNA του CART στο τοξοειδή πυρήνα του υποθαλάμου και η έκφρασή του αυξάνεται με τη χορήγηση λεπτίνης (Kristensen *et al.*, 1998, Tang- Christensen *et al.*, 1999).

Η υπόθεση εμπλοκής του CART ενισχύεται ακόμα περισσότερο από το εύρημα έρευνας κατά την οποία χορήγηση αντισώματος CART εξασθένησε τη διέγερση που προκαλεί η λεπτίνη στην συχνότητα παλμών της GnRH ενώ αντίθετα, ο ανταγωνιστής Y5 του NPY δεν παρουσίασε κανένα αποτέλεσμα στη δράση της λεπτίνης.

Επειδή η λεπτίνη μειώνει τα επίπεδα mRNA του NPY στον υποθάλαμο και το NPY μπορεί να διεγείρει την έκκριση της GnRH φαίνεται ότι πιθανότατα το NPY να διαδραματίζει κάποιο ρόλο στη διαμόρφωση της επίδρασης της λεπτίνης στην έκκριση της GnRH.

Η μελέτη του ρόλου που διαδραματίζει το CART στην αναπαραγωγή έχει διερευνηθεί σε μοσχεύματα υποθαλάμου *in vitro* στα οποία σημειώθηκε αύξηση της απελευθέρωσης της GnRH. (Lebrethon *et al.*, 2000). Όμως άλλοι ερευνητές διαπίστωσαν ότι η χορήγηση CART μειώνει την απελευθέρωση LH σε καλλιέργεια κυττάρων υπόφυσης επίμυων. (Baranowska *et al.*, 2003).

2.5. Εντεροκίνες

Η Γκρελίνη GHS

Η γκρελίνη συγκέντρωσε το ενδιαφέρον της επιστημονικής κοινότητας τον Δεκέμβριο του 1999 όταν αναφέρθηκε ο υποδοχέας του ενδογενή συνδετικού κρίκου του εκλυτικού παράγοντα για την αυξητική ορμόνη (GHRH) Growth Hormone Secretagogue – Receptor (GHS-R) τύπος 1a.

Ο σύνδεσμος αυτός ονομάστηκε *γκρελίνη* από την λέξη της Ινδοευρωπαϊκής διαλέκτου «Γκρε» που σημαίνει *ανάπτυξη* και την λέξη «*Πέλιν*» επειδή έχει δράσεις απελευθερωτικής αυξητικής ορμόνης. (Garcia *et al.*, 2007, Kojima *et al.*, 1999).

Πρόκειται για ένα πεπτίδιο αποτελούμενο από 28 αμινοξέα με αλυσίδα λίπους στο τρίτο αμινοξύ του άκρου αζώτου. Το πεπτίδιο αυτό εκκρίνεται από τα κύτταρα του γαστρικού βλεννογόνου και διεγείρει τη πρόσληψη τροφής και εμπλέκεται και στην έναρξη των γευμάτων.

Η ποικιλομορφία των ενδοκρινικών αλλά και των μη ενδοκρινικών δράσεων της γκρελίνης διέγειρε το ενδιαφέρον της επιστημονικής κοινότητας σε τέτοιο βαθμό ώστε να έχουν δημοσιευτεί περισσότερες από 1800 εργασίες με θέμα τη γκρελίνη τα τελευταία οκτώ χρόνια. (Kojima *et al.*, 1999).

2.5.1. Παραγωγή και ρύθμιση έκκρισης της γκρελίνης

Παράγεται κυρίως στο στόμαχο, από νευροενδοκρινικά κύτταρα που βρίσκονται στο θόλο του στομάχου και από εκεί εκκρίνεται στη κυκλοφορία του αίματος. Κύτταρα που παράγουν την ορμόνη βρίσκονται όμως και κατά μήκος του γαστρεντερικού συστήματος, από το στόμαχο έως το έντερο και η πυκνότητά τους μειώνεται προοδευτικά στα κατώτερα τμήματα. (Sakata I *et al.*, 2002, Lee HM *et al.*, 2002).

Παραγωγή γκρελίνης έχει διαπιστωθεί σε μικρότερο βαθμό και σε άλλες περιοχές, όπως στο τοξοειδή πυρήνα του υποθαλάμου και στην υπόφυση. (Korbonits M *et al.*, 2001). Ακόμη και τα α- και β- κύτταρα των νησιδίων του παγκρέατος παράγουν γκρελίνη,

συμβάλλοντας στη ρύθμιση της έκκρισης της ινσουλίνης. Τέλος βρέθηκε ότι η ορμόνη καθώς και ο υποδοχέας της εκφράζεται σε όλα τα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος ανεξάρτητα από το βαθμό ωρίμανσής τους.

Η παραγωγή της γκρελίνης επηρεάζεται από διατροφικούς και ορμονικούς παράγοντες. Καταστέλλεται από την λεπτίνη, την αυξητική ορμόνη (πιθανότατα μέσω μηχανισμού παλίνδρομης ρύθμισης), την ιντρελευκίνη 1b, και τη πλούσια σε λίπος δίαιτα ενώ αυξάνεται από τη πτωχή σε λίπος δίαιτα. Η έκκρισή της επηρεάζεται από τη σύνθεση της τροφής, ως ένας μηχανισμός διατήρησης σταθερού σωματικού βάρους και της ποσότητας του λιπώδους ιστού.

Η γκρελίνη του πλάσματος μειώνεται μετά από ενδοφλέβια ή και από του στόματος χορήγηση γλυκόζης. Επίσης, μειώνεται η γκρελίνη με ενδοφλέβια χορήγηση ινσουλίνης κατά τρόπο όμως που πιθανώς είναι ανεξάρτητος από τη μείωση που προκαλείται από τη γλυκόζη. Τέλος, η αύξηση των ελεύθερων λιπαρών οξέων της κυκλοφορίας με ενδοφλέβια χορήγηση λιπιδίων δεν προκάλεσε μεταβολή της γκρελίνης του πλάσματος του αίματος.

2.5.2. Δράσεις της γκρελίνης

Η γκρελίνη αποτελεί ισχυρό διεγέρτη για την έκκριση της αυξητικής ορμόνης GH και μάλιστα η δράση της φαίνεται ότι είναι ισχυρότερη από τη δράση της απελευθερωτικής της αυξητικής ορμόνης GHRH με την οποία μάλιστα έχει συνεργικά αποτελέσματα. (Pinkey J *et al.*, 2002, Broglio F *et al.*, 2001, Peino R *et al.*, 2000, Arvat E *et al.*, 2001, Di Vito L *et al.*, 2002).

Η γκρελίνη φαίνεται επίσης ότι αποτελεί τη κύρια κινητήρια δύναμη για την έκκριση της αυξητικής ορμόνης σε καταστάσεις νηστείας. (Muller AF *et al.*, 2002). Ουσιαστικά πρόκειται για ένα ορεξιογόνο σήμα από το γαστρεντερικό σύστημα προς τον εγκέφαλο. Αποδείχτηκε σε τρωκτικά και ανθρώπους ότι εξωγενής χορήγηση υψηλών επιπέδων γκρελίνης προκαλεί σταθερή αύξηση στη πρόσληψη τροφής που οδηγεί στην αύξηση του σωματικού βάρους. Η δράση της γκρελίνης φαίνεται ότι ασκείται μέσω των νευρώνων του τοξοειδούς πυρήνα του υποθαλάμου που εκφράζουν δύο πεπτίδια, το νευροπεπτίδιο Y (NPY) και η agouti-related protein (AgRP). Οι

νευρώνες αυτοί φαίνεται ότι αποτελούν τους κύριους υποθαλαμικούς στόχους της γκρελίνης και η διέγερσή τους οδηγεί σε αυξημένη πρόσληψη τροφής. Παρόλο του μεγάλου μεγέθους του μορίου της γκρελίνης που είναι της τάξεως των 3315 Da φαίνεται ότι μπορεί να φτάνει στους νευρώνες αυτούς λόγω της εκλεκτικής διαπερατότητας του αιματοεγκεφαλικού φραγμού. Η έκκριση της γκρελίνης γίνεται κατά τη διάρκεια της ημέρας σε ώσεις, τη δράση της οποίας στους νευρώνες NPY και AgRP νευρώνες του τοξοειδούς πυρήνα του υποθαλάμου η λεπτίνη ανταγωνίζεται.

Η έκκρισή της εμφανίζει μια έντονη αύξηση λίγο πριν τη πρόσληψη τροφής και μείωση με την επέλευση του κορεσμού. Μακροχρόνια, η κυκλοφορούσα γκρελίνη του πλάσματος εμφανίζεται αυξημένη σε καταστάσεις αρνητικού ενεργειακού ισοζυγίου και μειώνεται σε καταστάσεις θετικού ενεργειακού ισοζυγίου.

(Wang L *et al.*, 2002, Bagnasco M *et al.*, 2002, Wren AM *et al.*, 2001, Tschop M *et al.*, 2002, Kamegai J *et al.*, 2001, Shintani M *et al.*, 2001, Asakawa A *et al.*, 2001, Cummings DE *et al.*, 2001, Shiiya T *et al.*, 2002).

Η γκρελίνη αυξάνει τη πρόσληψη τροφής, μειώνει την οξείδωση των λιπαρών οξέων και αυξάνει την λιπαρότητα στα τρωκτικά.

Στον άνθρωπο, η γκρελίνη διεγείρει την όρεξη και τη πρόσληψη τροφής.

Κατά τη διάρκεια της νηστείας ο συνδυασμός της μειωμένης συγκέντρωσης ινσουλίνης και της αυξημένης συγκέντρωσης αυξητικής ορμόνης προάγουν τον καταβολισμό των τριγλυκεριδίων του λιπώδους ιστού και τη χρησιμοποίηση των λιπαρών οξέων για τη παραγωγή ενέργειας. Το αίσθημα της πείνας και η συμπεριφορά αναζήτησης τροφής διεγείρονται από τη μείωση της κυκλοφορούσης λεπτίνης και της ινσουλίνης, που καταστέλλουν τους νευρώνες του NPY στο τοξοειδή πυρήνα του υποθαλάμου, και από την αύξηση της γκρελίνης, που διεγείρει αυτούς τους νευρώνες. Μετά τη κατανάλωση τροφής το αίσθημα πείνας μειώνεται, ενώ ταυτόχρονα η συγκέντρωση της ινσουλίνης στο πλάσμα του αίματος αυξάνεται και της γκρελίνης μειώνεται.

Η γκρελίνη έχει κατασταλτική δράση στην έκκριση ινσουλίνης και σωματοστατίνης από το πάγκρεας οδηγώντας σε υπεργλυκαιμία. Αυξάνει την έκκριση του γαστρικού οξέος από το στόμαχο επιδρώντας στο παρασυμπαθητικό νευρικό σύστημα. Η γκρελίνη διεγείρει ακόμα την έκκριση και άλλων ορμονών όπως της προλακτίνης και της ACTH.

Η γκρελίνη εκφράζεται και ενδεχομένως συμβάλει στη ρύθμιση της λειτουργίας των όρχεων και ωοθηκών ενώ διαδραματίζει σπουδαίο ρόλο σε επίπεδο υποθαλάμου – υπόφυσης καθώς αναστέλλει την έκκριση LH και διεγείρει την έκκριση της προλακτίνης. (Pikney *et al.*, 2002, Cummings DE *et al.*, 2001).

Πέραν όμως από τη δράση της γκρελίνης στην έκκριση της αυξητικής ορμόνης και στη διαδικασία πρόσληψης τροφής φαίνεται ότι έχει και άλλες δράσεις στο μεταβολισμό και σε ποικίλα συστήματα του οργανισμού οι οποίες μένουν να διαλευκανθούν. Έτσι, υποδοχείς της γκρελίνης GHS-R έχουν εντοπιστεί σε μια πλειάδα ιστών, όπως η καρδιά, ο σπλήνας, οι νεφροί, το πάγκρεας, οι γονάδες. Οι υποδοχείς αυτοί παρουσιάζουν μια ποικιλομορφία, υποδεικνύοντας την πολυπλοκότητα των δράσεων της γκρελίνης.

Η γκρελίνη αναστέλλει σημαντικά, με τρόπο εξαρτώμενο από τη δόση, τη διέγερση της έκκρισης της τεστοστερόνης στον όρχη. (Tena-Sempere *et al.*, 2002). Δεδομένου ότι ο κύριος διεγερτικός παράγοντας για την έκφραση της γκρελίνης στον όρχη είναι η LH της υπόφυσης, εικάζεται ότι η γκρελίνη ίσως δρα ως τοπικός ρυθμιστής συντονισμού των δράσεων της LH προς παραγωγή στεροειδών, όπου ίσως συμμετέχει σε αυτοπεριορισμό της τεστοστερόνης από τους όρχεις ως ανταπόκριση στη διέγερση που προκαλούν οι γοναδοτροπίνες. (Barreiro *et al.*, 2002). Τέτοιο ανασταλτικό αποτέλεσμα στην έκκριση της τεστοστερόνης ίσως να διεξάγεται από τη συστηματική κυκλοφορία με τη γκρελίνη που προέρχεται από το έντερο, της οποίας οι συγκεντρώσεις στο πλάσμα του αίματος σχετίζονται αντιστρόφως ανάλογα με τη σωματική μάζα. Επιπροσθέτως, αυξημένα επίπεδα γκρελίνης (σαν εκείνα που παρατηρούνται στην ανεπάρκεια ενέργειας) ίσως συμβάλλουν σε καταστολή του αναπαραγωγικού άξονα των αρσενικών σε καταστάσεις αρνητικού ενεργειακού ισοζυγίου, όπως η στέρηση τροφής. (Dornonville *et al.*, 2005).

Επίσης η γκρελίνη μπορεί να αναστείλει το ποσοστό πολλαπλασιασμού των ανώριμων κυττάρων Leydig κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης που λαμβάνει χώρα κατά την ήβη. (Barreiro *et al.*, 2004).

Επειδή τα επίπεδα mRNA γκρελίνης μειώνονται στην ωοθυλακική φάση του οιστρικού κύκλου και αυξάνονται παρουσιάζοντας αιχμή στη διάρκεια της ωχρινικής φάσης,

υποδηλώνεται ότι η κυρίαρχη έκφρασή της είναι στη φάση του ωχρού σωματίου. (Caminos *et al.*, 2003).

Η γκρελίνη ασκεί ανασταλτική δράση στα επίπεδα έκκρισης των γοναδοτροπινών που προκαλεί η GnRH αλλά διεγερτική επίδραση στην βασική έκκριση της LH και της FSH. Επίσης χορήγηση γκρελίνης μειώνει τη διάρκεια της έκκρισης της LH που προκλήθηκε ως ανταπόκριση στην κισπεπτίνη-10. (Martini *et al.*, 2006). Επομένως, η γκρελίνη ως σήμα ανεπάρκειας ενέργειας ίσως λειτουργεί ως αρνητικός ρυθμιστής για την ενήβωση των αρσενικών καθώς και της έκκρισης LH, ένα αποτέλεσμα που εν μέρει διεξάγεται από τον ανεξάρτητο μηχανισμό του υποδοχέα της. Αυτοί οι μηχανισμοί ίσως περιλαμβάνουν την αναστολή της έκκρισης της LH στον άξονα υποθάλαμος – υπόφυση ή και την απευθείας αναστολή της έκκρισης τεστοστερόνης από τους όρχεις.

Καθώς η γκρελίνη έχει εντοπιστεί στον πλακούντα του επίμου και τα επίπεδά της αυξάνονται σημαντικά κατά τη νηστεία ενώ παράλληλα αναστέλλει την ανάπτυξη της πρώιμης εμφύτευσης εμβρύου ποντικού *in vitro* εικάζεται ότι η γκρελίνη ίσως δρα ως καίριο σήμα για την ενεργειακή ανεπάρκεια στη διάρκεια των αρχικών σταδίων της κυοφορίας, δρώντας ως ανασταλτικός παράγοντας στην πρώιμη ανάπτυξη του εμβρύου με σκοπό την αποφυγή της επιπρόσθετης ενεργειακής δαπάνης που συνδέεται με την κυοφορία και τη γαλουχία σε καταστάσεις κακής διατροφής. (Kawamura *et al.*, 2003)

2.5.3. Το πεπτίδιο YY₃₋₃₆

Το πεπτίδιο YY (PYY) είναι ένα μέλος της οικογένειας των νευροπεπτιδίων και ισχυρός καταστολέας της όρεξης. Το πεπτίδιο YY₃₋₃₆ (PYY₃₋₃₆) που είναι συγγενές με το νευροπεπτίδιο Y και μέλος της παγκρεατικής οικογένειας πολυπεπτιδίων, εκκρίνεται από το λεπτό έντερο και φαίνεται να αναστέλλει την όρεξη δρώντας στον τοξοειδή πυρήνα του υποθαλάμου. Το YY₃₋₃₆ εκκρίνεται από τα ενδοκρινικά κύτταρα του βλεννογόνου του λεπτού εντέρου μετά τα γεύματα σε αναλογία με τη πρόσληψη θερμίδων και μετατρέπεται στο PYY₃₋₃₆ με το ένζυμο διπεπτιδάση 4. Το PYY₃₋₃₆ διέρχεται ελεύθερα από τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό και δρα στον τοξοειδή πυρήνα του υποθαλάμου και μειώνει την όρεξη. Το PYY₃₋₃₆ ενεργοποιεί τον υποδοχέα Y2 του

νευροπεπτιδίου Y ο οποίος αναστέλλει τη δράση των νευρώνων του ορεξιόγόνου νευροπεπτιδίου Y. (Bartterham *et al.*, 2002).

Το PYY₃₋₃₆ ενεργοποιεί αυτοανασταλτικά Y2 υποδοχείς στα κύτταρα NPY/ AgRP και ως εκ τούτου μειώνει την ελευθέρωση των αναβολικών πεπτιδίων και αυξάνει τα σήματα καταβολισμού, μειώνοντας το ανασταλτικό γ-αμινοβουτυρικό οξύ από NPY σε POMC νευρώνες. (Bartterham *et al.*, 2002).

Το PYY₃₋₃₆ έχει αυτή τη δράση μείωσης βάρους όταν χορηγείται στη κυκλοφορία του αίματος ενώ αυξάνει τη πρόσληψη τροφής όταν χορηγείται στο κεντρικό νευρικό σύστημα (τότε διεγείρει τους Y1 και Y5 υποδοχείς). (Raposinho *et al.*, 2004).

Σε ποντίκι και επίμου περιφερική χορήγηση του PYY₃₋₃₆ μειώνει την ολική πρόσληψη τροφής και το σωματικό βάρος. Αδύνατα και παχύσαρκα πειραματόζωα παρουσίασαν την ίδια ανταπόκριση στο πεπτίδιο αυτό σε αντίθεση με τη διαφοροποίηση που παρατηρείται με τη λεπτίνη. Το PYY₃₋₃₆ αναστέλλοντας τους νευρώνες του νευροπεπτιδίου Y αναδεικνύει ένα πιθανό ρόλο στην λειτουργία της αναπαραγωγής.

Το NPY υπερεκκρίνεται σε παχύσαρκα τρωκτικά και η υπερέκκρισή του έχει κατασταλτική συνέπεια στην λειτουργία του άξονα υποθάλαμος – υπόφυση – γονάδες.

Τρωκτικά με υπερέκκριση NPY παρουσιάζουν υπογοναδισμό ενώ θηλυκό ποντίκι knockout για το NPY δεν παρουσιάζει μείωση της συγκέντρωσης της LH στη κυκλοφορία του αίματος μετά από νηστεία.

Το PYY₃₋₃₆ διεγείρει την παραγωγή LH και FSH από την υπόφυση *in vitro* αν και *in vivo* δεν έχει παρατηρηθεί κάποιο αποτέλεσμα εξαρτώμενο από τη δόση στα θηλυκά.

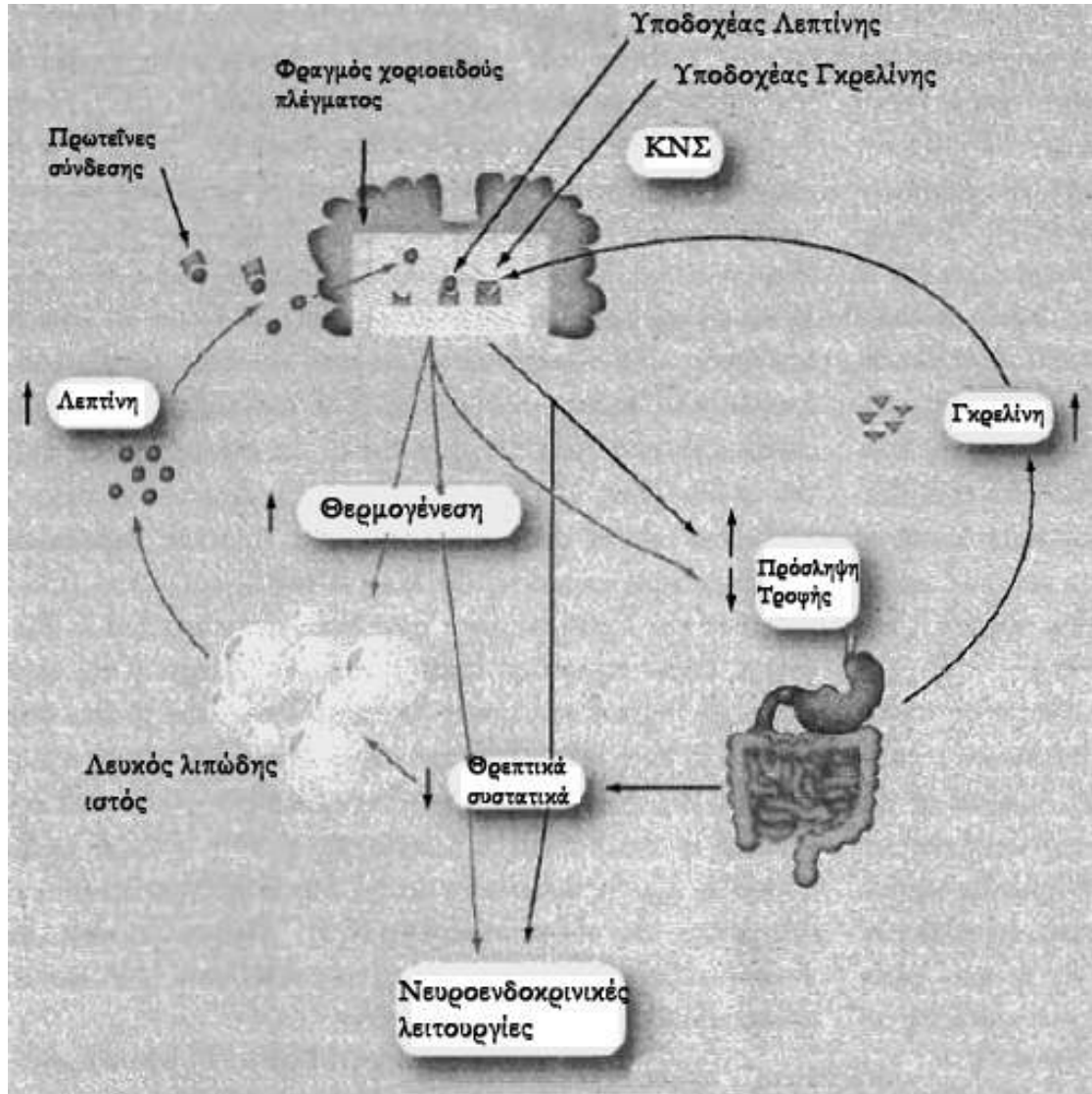
2.5.4. Λεπτίνη και Γκρελίνη

Η λεπτίνη και η γκρελίνη δρουν ως λειτουργικοί ανταγωνιστές για τη πρόσληψη τροφής και τη δαπάνη ενέργειας. (Smith RG *et al.*, 2005). Και τα δύο σήματα είναι εκκρινόμενα πεπτίδια των οποίων οι συγκεντρώσεις που κυκλοφορούν στο πλάσμα του αίματος, με αμοιβαίο τρόπο, οδήγησε στην θεωρία ότι η λεπτίνη (ως σήμα για το πλεόνασμα ενέργειας προκαλώντας μείωση της όρεξης) και η γκρελίνη (ως σήμα για την ανεπάρκεια ενέργειας προκαλώντας αύξηση της όρεξης) ίσως δρουν συνδυαστικά για το μακροπρόθεσμο έλεγχο της ενεργειακής ομοιοστασίας. (Ziegman *et al.*, 2003).

Η λεπτίνη έχει επιτρεπτικό ρόλο για την είσοδο στην ήβη και την έκκριση των γοναδοτροπινών ενώ η γκρελίνη μεταφέρει κυρίως ανασταλτικές δράσεις στην έκκριση της LH και της εισόδου στην ήβη. Επειδή όμως και η λεπτίνη και η γκρελίνη αναστέλλουν την έκκριση τεστοστερόνης από τους όρχεις, ίσως να δρουν συνεργικά σε επίπεδο γονάδων. Έχει παρατηρηθεί ότι συστηματική ή τοπική χορήγηση λεπτίνης στην ωοθήκη του θηλυκού επίμου μειώνει την ωοθυλακιορρηξία. (Dugal *et al.*, 2000). Σε *in vitro* καλλιέργειες ωοθυλακίων ποντικών, υψηλές συγκεντρώσεις λεπτίνης αναστέλλουν την ωοθυλακική ανάπτυξη, αυξάνουν την ωοθυλακική στεροειδογέννηση και μειώνουν την εξέλιξη του ωοκυττάρου κατά την μετάφαση II. (Swain *et al.*, 2004).

Η απουσία λεπτίνης σχετίζεται με καθυστέρηση της ενήβωσης και μη φυσιολογικής αναπαραγωγικής λειτουργίας ενώ η απουσία ή υπερέκκριση γκρελίνης δεν εμφανίζεται να επηρεάζει δραστικά την αναπαραγωγή. (Tena – Sempere *et al.*, 2007).

Το σύνδρομο Prader–Willi (PWS) που είναι η συχνότερη μορφή παχυσαρκίας στον άνθρωπο και χαρακτηρίζεται από υπερφαγία, ανεπάρκεια αυξητικής ορμόνης, υπογοναδισμό, δυσμορφικά χαρακτηριστικά και συγγενείς βλάβες εμφανίζει ιδιαίτερα υψηλά επίπεδα γκρελίνης (Cummings *et al.*, 2002).



Εικόνα 5. Πιθανή αλληλεπίδραση μεταξύ λεπτίνης και γκρελίνης στη ρύθμιση του ενεργειακού ισοζυγίου και των νευροενδοκρινικών λειτουργιών συμπεριλαμβανομένων και της αναπαραγωγής (M Tena-Sempere, ML Barreiro, M Lage, C Dieguez & FF Casanueva, 2007)

2.6. Κισπεπτίνη και αναπαραγωγή

Ο έλεγχος της αναπαραγωγής κατευθύνεται από την επικοινωνία ανάμεσα στον υποθάλαμο, την υπόφυση και τις γονάδες. Στη κορυφή του συστήματος ιεραρχίας βρίσκεται η παραγωγή και η έκκριση της απελευθερωτικής ορμόνης των γοναδοτροπινών (GnRH) από κύτταρα της προοπτικής περιοχής του εγκεφάλου. Παλμική έκκριση της GnRH στο υποφυσιαίο πυλαίο σύστημα οδηγεί στη σύνθεση των γοναδοτροπινών, της ωοθυλακιοτρόπου ορμόνης (FSH) και της ωχρινοποιητικής ορμόνης (LH). Οι γοναδοτροπίνες κυκλοφορούν στο αίμα και διεγείρουν τις γονάδες. Στο θηλυκό, το πρότυπο έκκρισης της GnRH και των γοναδοτροπινών ποικίλει στις φάσεις οίστρου και μέτοιστρου του οιστρικού κύκλου ρυθμιζόμενο από τη παλίνδρομη ρύθμιση που επιτελούν τα στεροειδή του φύλου στον υποθάλαμο και στην υπόφυση.

Κατά τη φάση του οίστρου γίνεται η ωοθυλακιορρηξία (στο πρόβατο συμβαίνει προς το τέλος του οίστρου) με τη δράση της LH και συνεργικά της FSH.

Κατά τον μέτοιστρο αναπτύσσεται το ωχρό σωματίο και αρχίζει η παραγωγή προγεστερόνης, που μειώνει την έκκριση της FSH και, κατά συνέπεια, την ανάπτυξη νέων ωοθυλακίων. Επειδή οι νευρώνες της GnRH δεν εκφράζουν τον υποδοχέα των οιστρογόνων (ER α) και τον υποδοχέα της προγεστερόνης, πρέπει να συμμετέχουν άλλοι νευρώνες ευαίσθητοι στα στεροειδή που να καθορίζουν τις επιδράσεις της παλίνδρομης ρύθμισης των φυλετικών στεροειδών στην έκκριση της GnRH.

Στη δύση του 2003, γενετικές μελέτες δύο εργαστηρίων ανακάλυψαν ότι ανενεργές μεταλλάξεις και στοχευμένες διαγραφές του υποδοχέα της G πρωτεΐνης, GPR54, σε ανθρώπους και ποντίκια, προκαλούν αγονιμότητα και υπογοναδοτροπικό υπογοναδισμό. (de Roux *et al.*, 2003, Seminara *et al.*, 2003). Κατά τον υπογοναδοτροπικό υπογοναδισμό, υφίσταται μια ανεπάρκεια έκκρισης των γοναδοτροπινών από την υπόφυση, ως συνέπεια μη φυσιολογικής ανάπτυξης κατά την ενήβωση του άξονα υποθάλαμος-υπόφυση-γονάδες, συνήθως εξαιτίας μεταλλάξεων στον υποδοχέα της GnRH.

Η εξουδετέρωση του υποδοχέα GPR-54 στο αρσενικό ποντίκι προξενεί καθυστέρηση στην ενήβωση, μικρούς όρχεις και μειωμένη αναπαραγωγική συμπεριφορά ενώ στο θηλυκό ποντίκι, μικρές ωοθήκες και μήτρα, καθυστέρηση στο άνοιγμα του κόλπου, ανώριμα ωοθυλάκια και μειωμένη αναπαραγωγική συμπεριφορά. Και τα δύο φύλα είναι στείρα και εμφανίζουν χαμηλά επίπεδα γοναδοτροπινών αν και εντοπίζονται χαμηλού επιπέδου ώσεις των γοναδοτροπινών, δείχνοντας ότι το GPR-54 δεν είναι απαραίτητο για τη βασική έκκριση της GnRH ή της LH στο ποντίκι. Το ποντίκι με εξουδετερωμένο τον υποδοχέα GPR-54 ανταποκρίνεται ωστόσο στην εξωτερική χορήγηση GnRH δείχνοντας ότι υπάρχει μια ασθενής έκκριση GnRH σε αυτά τα ζώα. (Seminara *et al.*, 2003, Lapatto *et al.*, 2007).

Τα συνδετικά μόρια του υποδοχέα GPR54 καλούνται κισπεπτίνες και προέρχονται από τη μετάφραση του προϊόντος του γονιδίου KiSS-1 (Kotani *et al.*, 2001, Muir *et al.*, 2001, Ohtaki *et al.*, 2001).

Οι κισπεπτίνες είναι προϊόντα του γονιδίου KiSS-1 που ανακαλύφθηκε από τους Lee *et al.*, το 1996 ως γονίδιο αναστολής μετάστασης κακοήθων κυττάρων μελανώματος.

Επειδή ανακαλύφθηκε στο Hershey αποφασίστηκε να ονομαστεί Kiss από τις διάσημες σοκολάτες Kisses του Hershey. Το γονίδιο KiSS-1 στον άνθρωπο εντοπίζεται στο χρωμόσωμα Iq32 και περιλαμβάνει δύο μη μεταφρασμένες και δύο μερικώς μεταφρασμένες περιοχές και τέσσερα εξόνια συνιστώντας ένα πρόδρομο πεπτίδιο 145 αμινοξέων (West *et al.*, 1998). Αυτή η πρόδρομη ουσία μπορεί να διαχωριστεί σε τμήμα 54 αμινοξέων και περαιτέρω σε τμήματα 14, 13 ή 10 αμινοξέων με άκρο υδροξυλίου. Συλλογικά αυτά τα τμήματα πεπτιδίων με το άκρο αζώτου λέγονται κισπεπτίνες και ανήκουν στη μεγάλη οικογένεια των πεπτιδίων που είναι γνωστά ως RF αμίνες, που διακρίνονται από τη σειρά Arg – Phe- NH₂ στο C άκρο τους. Οι κισπεπτίνες είναι οι φυσικοί σύνδεσμοι του υποδοχέα G πρωτεΐνης (GPCR) γνωστού ως GPR54 στον επίμυ (Lee *et al.*, 1999) και AXOR12 στον άνθρωπο (Muir *et al.*, 2001). Το GPR54 είναι ένας υποδοχέας 396 αμινοξέων και μέλος της οικογένειας ροδοψίνης τάξεως A GPCRs και έχει ομοιότητα (45%) με τους υποδοχείς του νευροπεπτιδίου της γαλανίνης.

Η αποσαφήνιση της λειτουργίας της κισπεπτίνης στην αναπαραγωγή θεωρείται η μεγαλύτερη ανακάλυψη της δεκαετίας στο τομέα της νευροενδοκρινολογίας ισοδύναμη με την ταυτοποίηση της GnRH τη δεκαετία του 1970.

Πρώτον, διεγείρουν άμεσα τους νευρώνες της GnRH (Han *et al.*, 2005, Irwig *et al.*, 2004) και την έκκριση των γοναδοτροπινών (Gottsch *et al.*, 2004, Messenger *et al.*, 2005). Δεύτερον, τα κύτταρα της κισπεπτίνης προβάλλονται στους νευρώνες της GnRH (Clarkson *et al.*, 2006, Smith *et al.* In press 2009) και όλοι οι νευρώνες της GnRH εκφράζουν mRNA του GPR54 (Han *et al.*, 2005, Irwig *et al.* 2004).

Τρίτον, τα κύτταρα κισπεπτίνης βρίσκονται στις περιοχές του προσθίου εγκεφάλου που εμπλέκονται στη παλίνδρομη ρύθμιση των στεροειδών του φύλου.

(Estrada *et al.*, 2006, Gottsch *et al.*, 2004).

Τέταρτον, η κισπεπτίνη είναι ικανή να προκαλέσει απελευθέρωση GnRH *in vivo* και να διεγείρει, με έναν τρόπο εξαρτώμενο από τη δόση, την έκκριση της GnRH σε τμήματα υποθαλάμου *ex vivo*.

(Messenger *et al.*, 2005, Thompson *et al.*, 2004, Castellano *et al.*, 2005).

Πέμπτον, οι νευρώνες της κισπεπτίνης εκφράζουν υποδοχείς για οιστρογόνα και προγεστερόνη και τα στεροειδή του φύλου είναι ικανά να ρυθμίζουν την έκφραση της κισπεπτίνης με έναν τρόπο κατάλληλο και για την αρνητική αλλά και για τη θετική παλίνδρομη ρύθμιση. (Smith *et al.*, 2009).

Τέλος, εκτός από την ενίσχυση της έκφρασης του KiSS-1 σημειώνεται και σημαντική αύξηση στην ευαισθησία του συστήματος της GnRH στην ενεργοποίηση της κισπεπτίνης κατά τη διάρκεια της ενήβωσης σε ποντίκι και επίμυ. Στο τοξοειδή πυρήνα του υποθαλάμου ανιχνεύτηκε αρνητική παλίνδρομη ρύθμιση των επιπέδων mRNA KiSS-1 από τα στεροειδή των γονάδων ενώ στους πρόσθιο κοιλιακό και στον παρακοιλιακό πυρήνες του υποθαλάμου τα οιστρογόνα αύξησαν την έκφραση του γονιδίου KiSS-1. (Smith *et al.*, 2005)

Αυτή η παρατήρηση σε συνδυασμό με το ότι ο προοπτικός παρακοιλιακός πυρήνας είναι κύριο υποθαλαμικό κέντρο για τη διεξαγωγή της θετικής παλίνδρομης ρύθμισης της οιστραδιόλης στην έκκριση της LH των τρωκτικών, αναδεικνύουν την πιθανότητα ότι το σύστημα KiSS-1 μπορεί να διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στη δημιουργία της προωοθυλακιορρηκτικής αιχμής της LH που επιφέρει την ωοθυλακιορρηξία. (Smith *et*

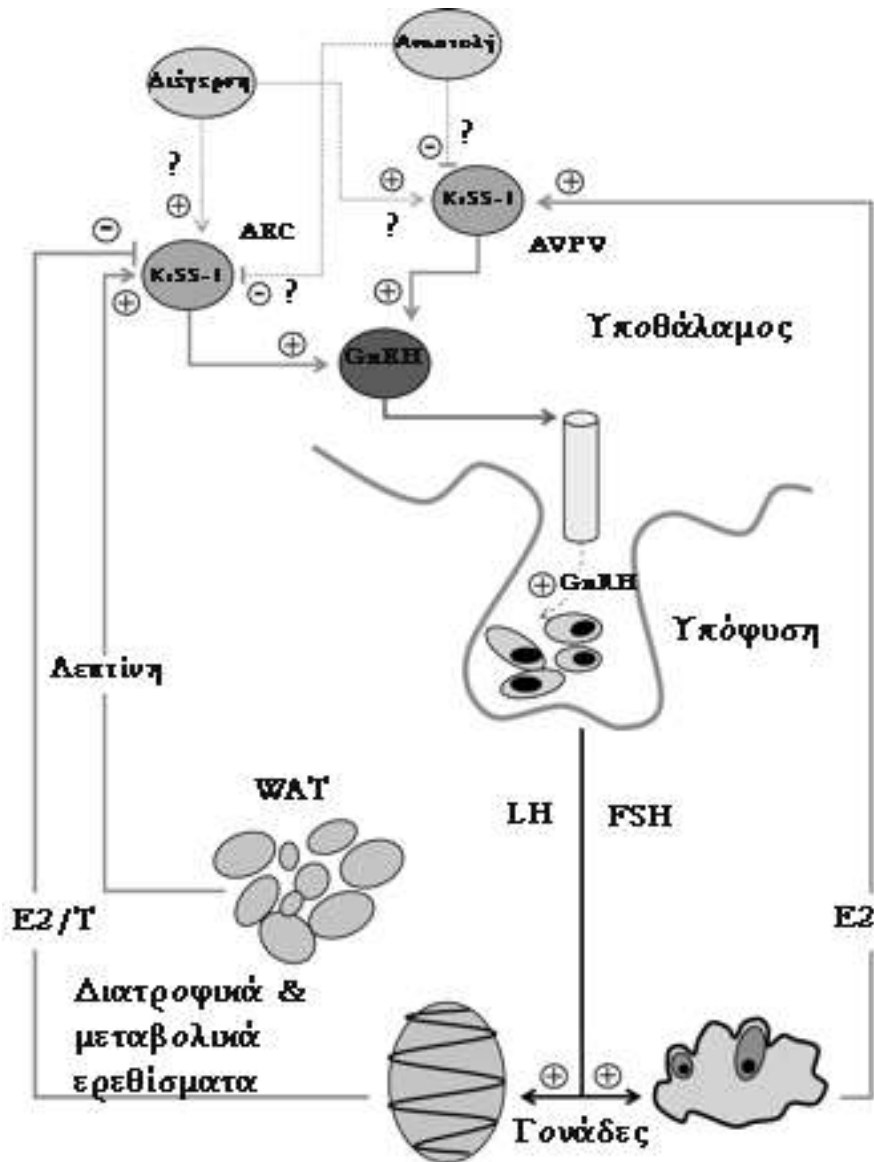
al., 2005). Φαρμακολογικές έρευνες σε αρσενικούς και θηλυκούς επίμυες έδειξαν ότι ενδοεγκεφαλική χορήγηση κισπεπτίνης-10 είναι ικανή να επιφέρει ισχυρή ανταπόκριση LH και FSH. (Navarro *et al.*, 2004).

Οι κισπεπτίνες και ο υποδοχέας τους GPR54, εντοπίζονται σε μια πλειάδα ιστών και στη περιφέρεια αλλά και στον υποθάλαμο και στον εγκέφαλο, με τη πιο άφθονη όμως έκφρασή τους στο πλακούντα. Έχει παρατηρηθεί επίσης έκφρασή τους στον όρχη και στην ωοθήκη. Δεν έχει διαπιστωθεί όμως λειτουργική δράση της κισπεπτίνης στον όρχη.

Στον θηλυκό επίμυ, η έκφρασή τους έχει εντοπιστεί στο επιθήλιο της ωοθήκης και στους διάμεσους αδένες σε όλα τα στάδια του οιστρικού κύκλου. Κατά την ανάπτυξη των πρωοθυλακιορρηκτικών ωοθυλακίων, κισπεπτίνη και GPR54 βρίσκονται στα κύτταρα θήκης, από τον οίστρο μέχρι την αρχή του πρόοιστρου, μετά μετακινούνται στην επιφάνεια των κοκκωδών κυττάρων των πρωοθυλακιορρηκτικών ωοθυλακίων στα τέλη του πρόοιστρου. Μετά την ωοθυλακιορρηξία, η έκφρασή τους επιστρέφει στα ωχρινικά κύτταρα θήκης του ωχρού σωματίου και αρχίζει να μειώνεται κατά την παλινδρόμηση του ωχρού σωματίου.

Τα επίπεδά τους επίσης αυξάνονται το απόγευμα του πρόοιστρου μόλις πριν την αιχμή της LH και την ωοθυλακιορρηξία και μετά την ωοθυλακιορρηξία μειώνονται. Η αύξηση mRNA KiSS-1 φαίνεται ότι σχετίζεται άμεσα με την αιχμή της LH στα τρωκτικά. Χορήγηση hCG σε αυτά τα ζώα, αυξάνει τα επίπεδα mRNA στην ωοθήκη υποδηλώνοντας ότι η ωοθυλακική αύξηση του mRNA KiSS-1 ρυθμίζεται από την LH. Σε περί την ήβη θηλυκούς επίμυες, η έκφραση KiSS-1 στην ωοθήκη είναι χαμηλή λόγω χαμηλών επιπέδων LH, αλλά μπορεί να αυξηθεί με χορήγηση hCG. (Castellano *et al.*, 2006a).

Τα προϊόντα του γονιδίου KiSS-1, η κισπεπτίνη-54 (ή μεταστίνη λόγω της ικανότητάς της να εμποδίζει τη μετάσταση των καρκινικών όγκων) και η κισπεπτίνη-10, δρουν στον υποθάλαμο προκειμένου να διεγείρουν την απελευθέρωση της LH σε αναπαραγωγικά ανώριμους επίμυες και πιθήκους και να προωθήσουν το άνοιγμα του κόλπου σε θηλυκούς επίμυες. (Navarro *et al.*, 2004, Thompson *et al.*, 2004, Shahab *et al.*, 2005).



Εικόνα 6 Σχηματική αναπαράσταση του ρόλου που θεωρείται ότι διαδραματίζει η κισπεπτίνη ως ενοποιητής του κεντρικού νευρικού συστήματος που ελέγχει την έκκριση της GnRH και κατ'επέκταση του άξονα των γοναδοτροπινών. Το υποθαλαμικό σύστημα KiSS-1 θεωρείται ότι βρίσκεται στις κατώτερες βαθμίδες

της ιεραρχίας των κεντρικών ρυθμιστών των νευρώνων της GnRH, οι οποίοι εκφράζουν το GPR54 και ως εκ τούτου αποτελούν στόχους της κισπεπτίνης. Φαίνεται ότι περιφερικοί ρυθμιστές του άξονα των γοναδοτροφινών, συντονίζονται μέσω του συστήματος KiSS-1. Σε αυτούς ανήκουν τα στεροειδή των γονάδων, όπως τα οιστρογόνα (E2) και η τεστοστερόνη(T), τα οποία έχουν αποδειχθεί ότι ρυθμίζουν την έκφραση του KiSS-1 γονιδίου σε επίπεδο υποθαλάμου. Ενδιαφέρον είναι το φαινόμενο καταστολής των mRNA επιπέδων του KiSS-1 και από τα ανδρογόνα και από τα οιστρογόνα στο τοξοειδή πυρήνα του υποθαλάμου (ειδίκευση λόγω υποθαλαμικού πυρήνα), αν και τα οιστρογόνα ενισχύουν την έκφραση του KiSS-1 γονιδίου στον πρόσθιο κοιλιακό και παρακοιλιακό και με τον τρόπο αυτό παρέχουν τη δυνατότητα για την αρνητική και τη θετική παλίνδρομη ρύθμιση της έκκρισης των γοναδοτροπινών. Επιπροσθέτως, το διατροφικό καθεστώς διαμορφώνει την έκφραση και τη λειτουργία του KiSS-1 συστήματος σε επίπεδο υποθαλάμου, ενδεχομένως μέσω της λεπτίνης (η οποία παράγεται από τον λευκό λιπώδη ιστό White Adipose Tissue WAT) είτε άλλα μεταβολικά σήματα, των οποίων η φύση ακόμα δεν έχει διευκρινιστεί. Είναι πολύ πιθανό και άλλοι περιφερικοί ρυθμιστές και κεντρικά σήματα, με ικανότητα να επιδρούν στον άξονα των γοναδοτροφινών, να δρουν μέσω της λειτουργίας του KiSS-1 συστήματος. Συνοψίζοντας, οι κισπεπτίνες και οι GPR54 στον υποθάλαμο αποτελούν ζωτικής σημασίας πύλες για την αναπαραγωγική λειτουργία. (Tena Sempere, 2006)

2.6.1. Ο ρόλος της κισπεπτίνης στον έλεγχο της έκκρισης των γοναδοτροπινών

Στο πρόβατο και στα πρωτεύοντα οι νευρώνες της κισπεπτίνης δεν εντοπίζονται στον πρόσθιο κοιλιακό και παρακοιλιακό πυρήνα του υποθαλάμου (Franceshini *et al.*, 2006, Rometo *et al.*, 2007) αλλά προβάλλονται στη μέση και προοπτική περιοχή του υποθαλάμου μαζί με νευρώνες της GnRH (Franceshini *et al.*, 2006, Pompolo *et al.*, 2006). Υπάρχει στενή σχέση σε ποσοστό 70-90% ανάμεσα στους νευρώνες της GnRH και της κισπεπτίνης σε ποντίκι, πρόβατο και πίθηκο υποδηλώνοντας ότι η κισπεπτίνη δρα άμεσα στους νευρώνες της GnRH προκειμένου να ρυθμίσει την έκκριση των

γοναδοτροπινών. Στο πρόβατο οι νευρώνες της κισπεπτίνης συνυπάρχουν με της GnRH στη μέση και στη προοπτική περιοχή ενώ στο ποντίκι οι άξονες της κισπεπτίνης σχετίζονται με τα σώματα των κυττάρων της GnRH και των δενδριτών στη προοπτική περιοχή και στα πρωτεύοντα, οι συσχετίσεις λαμβάνουν χώρα στη μεσαία περιοχή ανάμεσα στους νευρώνες της κισπεπτίνης και στους άξονες της GnRH.

(Pompolo *et al.*, 2006, Clarkson and Herbison, 2006, Ramaswamy *et al.*, 2008).

Χορήγηση κισπεπτίνης στα κύτταρα της υπόφυσης του προβάτου που είναι υπεύθυνα για την έκκριση των γοναδοτροπινών και της αυξητικής ορμόνης κατά τη διάρκεια της ωοθυλακικής φάσης προκαλεί αύξηση 80% στην απελευθέρωση της LH. Ωοθυκεκτομή σε προβατίνες στις οποίες είχε αποσυνδεθεί ο υποθάλαμος από την υπόφυση δεν προκλήθηκε έκκριση LH από την κισπεπτίνη σε καμία φάση του οιστρικού κύκλου. Επιπροσθέτως, η κισπεπτίνη είναι παρούσα σε χαμηλά επίπεδα στο υποφυσιαίο πυλαίο σύστημα δίχως να επηρεάζεται από τα οιστρογόνα ούτε κατά τη πρόκληση της αιχμής της LH. (Smith *et al.*, 2008). Τα *in vivo* ευρήματα σε αντίθεση με τα *in vitro* δείχνουν ότι η άμεση δράση της κισπεπτίνης στην υπόφυση δεν είναι σημαντική για την έκκριση της LH.

Είναι ευρέως αποδεκτό ότι οι νευρώνες της GnRH φυσιολογικά δεν εκφράζουν υποδοχείς της λεπτίνης υποδηλώνοντας έτσι την εμπλοκή ενδιάμεσων σημάτων. Υπάρχουν ισχυρές ενδείξεις σύμφωνα με τις οποίες η κισπεπτίνη λειτουργεί ως κεντρικός παράγοντας για την επίδραση της λεπτίνης στο σύστημα της GnRH. Σημαντικό ποσοστό (>40%) των υποδοχέων της λεπτίνης αναλογούν σε νευρώνες της κισπεπτίνης στο τοξοειδή πυρήνα του υποθαλάμου. Επίσης η ανεπάρκεια λεπτίνης στο ποντίκι LEP δείχνει μειωμένα mRNA επίπεδα κισπεπτίνης στον υποθάλαμο τα οποία μπορούν μερικώς να αποκατασταθούν με χορήγηση λεπτίνης. (Smith *et al.*, 2006)

Σε αρσενικούς επίμυες με υπολεπτιναιμία όπως ο διαβητικός επίμυς, μακροχρόνια ενδοεγκεφαλική χορήγηση λεπτίνης είναι ικανή να φέρει στα φυσιολογικά τα επίπεδα mRNA του υποθαλαμικού KiSS-1 όπως επίσης και τις συγκεντρώσεις LH και τεστοστερόνης. (Castellano *et al.*, 2006).

2.6.2. Η κισπεπτίνη και ο μεταβολικός έλεγχος εισόδου στην ήβη

Η κατάσταση των ενεργειακών αποθεμάτων του οργανισμού είναι ζωτικής σημασίας παράγοντας για την είσοδο στην ήβη μια που καταστάσεις ανεπάρκειας ενέργειας ή ακατάλληλων θρεπτικών συστατικών σχετίζονται με καθυστέρηση ή και απουσία της ανάπτυξης που συντελείται κατά την ήβη. (Parent A-S *et al.*, 2003).

Ενώ η λεπτίνη, η ινσουλίνη, η γκρελίνη και το PYY₃₋₃₆ θεωρούνται ρυθμιστές της λειτουργίας του άξονα υποθάλαμος – υπόφυση – γονάδες, τα κεντρικά μονοπάτια μέσω των οποίων η μεταβολική πληροφορία συγκεντρώνεται στα κέντρα ελέγχου του συστήματος των γοναδοτροπινών (όπως οι νευρώνες της GnRH) μένουν να διελευκανθούν πλήρως.

Με δεδομένο τον πρωταρχικό ρόλο των νευρώνων της κισπεπτίνης στη ρύθμιση της έκκρισης της GnRH διατυπώθηκε η θεωρία σύμφωνα με την οποία το σύστημα KiSS-1 μπορεί να εμπλέκεται στη λειτουργία του κεντρικού καναλιού μεταφοράς της μεταβολικής ρύθμισης της ήβης. (Fernandez R *et al.*, 2006).

Σε υποσιτισμένους θηλυκούς επίμυες (κατά 30% του φυσιολογικού επιπέδου διατροφής) που χορηγήθηκε κισπεπτίνη αποκαταστάθηκε σε ποσοστό 60% το άνοιγμα του κόλπου

(απουσία το άνοιγμα του κόλπου κατά τον υποσιτισμό ως ένδειξη σημαντικής μείωσης των επιπέδων των γοναδοτροπινών και της οιστραδιόλης) (Castellano *et al.*, 2005)

και προωθήθηκαν οι ανταποκρίσεις των γοναδοτροπινών και των οιστρογόνων σε όλους του επίμυες παρόλο το γεγονός ότι δεν υπήρξαν σημαντικές μεταβολές στο σωματικό τους βάρος. Είναι πιθανό οι νευρώνες της κισπεπτίνης να δρουν ως αισθητήρες του ενεργειακού ισοζυγίου και της μεταβολικής κατάστασης καθώς επέρχεται μείωση της κισπεπτίνης κατά την καταστολή της ανάπτυξης που συντελείται κατά την ήβη αλλά και καταστολή της αναπαραγωγικής λειτουργίας σε καταστάσεις ενεργειακού ελλείμματος.

Ανάλυση της έκφρασης του KiSS-1 γονιδίου και του υποδοχέα GPR54 στον υποθάλαμο του επίμυ έδειξε μία σημαντική αύξηση στα επίπεδα των mRNA των KiSS-1 και GRP54 κατά την μετάβαση στην ήβη ενώ τα επίπεδα της έκφρασης τους ήταν χαμηλά λίγο πριν την είσοδο στην ήβη. Μελέτες σε πρωτεύοντα με κεντρική χορήγηση

της κισπεπτίνης προκλήθηκε θεαματική αύξηση στην ανταπόκριση της LH και στα υποθαλαμικά επίπεδα των mRNA KiSS-1 και GRP54 θηλυκών στη διάρκεια της μετάβασης από το προηβικό μέχρι τη μέση της ήβης ενώ στα αρσενικά ανιχνεύτηκε μεγάλη αύξηση μόνο των επιπέδων mRNA KiSS-1. (Shahab *et al.*, 2005).

Στο πρόβατο immunoreactivity ανοσοαντιδραστικές ίνες της κισπεπτίνης εντοπίζονται στην εξωτερική (νευροεκκριτική) ζώνη της μεσαίας περιοχής (Franceschini *et al.*, 2006) και σε πολλές περιπτώσεις εντοπίζονται σε στενή σχέση (αλλά όχι με σύγχρονη έκφραση) με ανοσοαντιδραστικές ίνες της GnRH.

(Ενώ δεν εντοπίζονται ανοσοαντιδραστικές ίνες στην εξωτερική ζώνη της μεσαίας περιοχής σε ποντίκι ή επίμυ)(Adachi *et al.*, 2007, Clarkson *et al.*, 2006).

Αυτή η εντόπιση επιτρέπει στη κισπεπτίνη να ρυθμίζει την έκκριση της GnRH σε τελικό νευροεκκριτικό επίπεδο (έλεγχος ποσότητας) και /ή να εκκρίνεται εντός του υποφυσιαίου πυλαίου συστήματος προκειμένου να διεγείρει άμεσα την έκκριση της LH.

Παρόλα αυτά όμως, ενώ η κισπεπτίνη φαίνεται να περιέχεται στη κυκλοφορία του πυλαίου συστήματος της υπόφυσης, το επεισοδιακό σχέδιο της έκκρισης της δεν έχει καμία σχέση με την κερκάδια έκκριση της LH από την υπόφυση. (Smith *et al.*, 2008).

Επίσης, δεν σημειώθηκε καμία αύξηση των επιπέδων της κισπεπτίνης στην υποφυσιαία πυλαία κυκλοφορία τη χρονική στιγμή της προωθυλακιορρηκτικής αιχμής της LH που προκαλείται από τα οιστρογόνα (Smith *et al.*, 2008), ως ανταπόκριση στην αύξηση της έκκρισης της GnRH (Clarke *et al.*, 1993). Επιπλέον, η κισπεπτίνη, ήταν ανεπαρκής να διεγείρει την έκκριση της LH σε προβατίνες *in vivo* στις οποίες είχε αποσυνδεθεί ο υποθάλαμος από την υπόφυση(Smith *et al.*, 2008), υποδεικνύοντας με αυτό τον τρόπο, ότι οποιαδήποτε δράση της κισπεπτίνης στις γοναδοτροπίνες της υπόφυσης, τουλάχιστον όσον αφορά το πρόβατο, είναι ελάχιστη. Εκτός από αυτό, η έκφραση mRNA του GPR54 εντοπίζεται στην υπόφυση του προβάτου (Smith *et al.* 2009), ώστε να μην μπορεί να αποκλειστεί κάποιος ρυθμιστικός ρόλος που ενδεχομένως να διαδραματίζει η κισπεπτίνη στην υπόφυση.

2.6.3. Η ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης της κισπεπτίνης μέσω του υποδοχέα α των οιστρογόνων α και του συμπλόκου πρωτεϊνών SP

Η δραστηριότητα των νευρώνων της κισπεπτίνης στο τοξοειδή πυρήνα του υποθαλάμου τρωκτικών, προβάτου και σε πρωτεύοντα, είναι υπεύθυνη για την ολοκλήρωση της αρνητικής παλίνδρομης ρύθμισης των οιστρογόνων στους νευρώνες της GnRH.

Η οιστραδιόλη (E2) είναι το κυρίαρχο φυλετικό στεροειδές των θηλυκών και κινητοποιείται από τις ορμόνες της υπόφυσης LH και FSH. Μέσω συστήματος αρνητικής παλίνδρομης ρύθμισης, τα οιστρογόνα ρυθμίζουν στα κατώτερα επίπεδα την έκφραση πολλών υποθαλαμικών και υποφυσιαίων πεπτιδίων, όπως η GnRH, η LH και η FSH. (Stafford LJ *et al.*, 2002, Lania A *et al.*, 2002).

Τα οιστρογόνα εκτός από την αρνητική παλίνδρομη ρύθμιση ρυθμίζουν στα θηλυκά και τη θετική παλίνδρομη ρύθμιση στον άξονα υποθάλαμος – υπόφυση – γονάδες για τη πραγματοποίηση της αιχμής της LH που θα επιφέρει την ωοθυλακιορρηξία.

Στο πρόβατο και στα πρωτεύοντα, οι νευρώνες της κισπεπτίνης βρίσκονται μόνο στο τοξοειδή πυρήνα και στη προοπτική περιοχή του υποθαλάμου (ενώ στα τρωκτικά υπάρχουν νευρώνες της κισπεπτίνης και στο πρόσθιο κοιλιακό και παρακοιλιακό πυρήνα του υποθαλάμου). Στο πρόβατο, ο τοξοειδής πυρήνας του υποθαλάμου φαίνεται να είναι υπεύθυνος και για την αρνητική αλλά και για τη θετική παλίνδρομη ρύθμιση (Esrada *et al.*, 2006, Pompolo *et al.*, 2006, Smith *et al.*, 2007).

Ωοθυκεκτομημένα θηλυκά και ευνουχισμένα αρσενικά ποντίκια (Smith *et al.*, 2005a, b), πρόβατα (Pompolo *et al.*, 2006, Smith *et al.*, 2006b) και rhesus πίθηκοι (Rometo *et al.*, 2007, Shibata *et al.*, 2007) εμφανίζουν αυξημένα επίπεδα mRNA KiSS-1 συγκριτικά με τα φυσιολογικά. Επίσης, αν δοθεί συμπληρωματική χορήγηση οιστρογόνων στα ωοθυκεκτομημένα θηλυκά ή τεστοστερόνης στα ευνουχισμένα αρσενικά, τα επίπεδα mRNA KiSS-1 μειώνονται στα φυσιολογικά επίπεδα. (Smith *et al.*, 2005b, 2006b,c, Pompolo *et al.*, 2006, Rometo *et al.*, 2007, Shibara *et al.*, 2007).

Αυτό το φαινόμενο αναδεικνύει ότι τα στεροειδή πραγματοποιούν αρνητική παλίνδρομη ρύθμιση στα επίπεδα mRNA του KiSS-1 στο τοξοειδή πυρήνα του υποθαλάμου και κατ'επέκταση μειώνουν τη διέγερση των νευρώνων της GnRH. Η ρύθμιση του mRNA KiSS-1 από τα στεροειδή πραγματοποιείται μέσω του πρώτου

υποδοχέα των οιστρογόνων ER α . Ειδικός αναστολέας (PPT) αυτού του υποδοχέα εμποδίζει τη μείωση του mRNA στους νευρώνες στο τοξοειδή πυρήνα ενώ ειδικός αναστολέας(DPN) του δεύτερου υποδοχέα οιστρογόνων (ER β) δεν επηρεάζει τα επίπεδα mRNA. (Baterman and Patisaul, 2008). Επιπλέον, το ποντίκι δίχως το πρώτο υποδοχέα των οιστρογόνων (ER α) δεν παρουσιάζει αρνητική παλίνδρομη ρύθμιση των επιπέδων mRNA του KiSS-1 από τα οιστρογόνα στον υποθάλαμο. (Smith *et al.*, 2005a).

Στους νευρώνες της προβατίνας, mRNA KiSS-1 στην ουριαία μοίρα του τοξοειδούς πυρήνα του υποθαλάμου αυξάνεται στη διάρκεια της ωοθυλακικής φάσης, στον οπίσθιο τοξοειδή πυρήνα κατά τη διάρκεια του οίστρου όταν λαμβάνει χώρα η αιχμή της LH (Estrada *et al.*, 2006). Αυτό το φαινόμενο δείχνει ότι ο τοξοειδής πυρήνας είναι υπεύθυνος για τη θετική παλίνδρομη ρύθμιση των στεροειδών στη προβατίνα. Σε φυσιολογική προβατίνα, κατά τη διάρκεια του οιστρικού κύκλου, η κισπεπτίνη μπορεί να συγχρονίζει την αιχμή της LH και κατά τη διάρκεια της άνοιστρης περιόδου, χορήγηση κισπεπτίνης μπορεί να προκαλεί ωοθυλακιορρηξία, υποδηλώνοντας ότι όταν τα επίπεδα της κισπεπτίνης είναι αρκετά υψηλά να μπορεί να πραγματοποιηθεί η αιχμή της LH και κατ'επέκταση να σχετίζονται με τη θετική παλίνδρομη ρύθμιση στους νευρώνες της GnRH. (Caraty *et al.*, 2007).

Διάφορες έρευνες τονίζουν τη σπουδαιότητα της ώρας της ημέρας, του είδους του ζώου και της περιοχής του εγκεφάλου στο προσδιορισμό των αποτελεσμάτων των στεροειδών στους νευρώνες της GnRH. Η οιστραδιόλη E2 μειώνει την έκφραση mRNA GnRH σε ωθηκεκτομημένους επίμυες και στη προοπτική περιοχή του προβάτου αν και αυτή η μείωση είναι μεταβατική και συμβαίνει στην έναρξη της απελευθέρωσης της αιχμής της LH. (Pelletier *et al.*, 2001, Dhillon *et al.*, 1997, Harris *et al.*, 1998).

Έρευνες στον εγκέφαλο του ανθρώπου δείχνουν ότι τα επίπεδα mRNA της GnRH μειώνονται από τα στεροειδή μόνο στο τύπο I των νευρώνων της μεσαίας περιοχής του υποθαλάμου(Rance NE *et al.*, 1996). Η οιστραδιόλη επίσης μειώνει την έκφραση του γονιδίου της GnRH σε πρωτεύοντα εκτός του ανθρώπου με παρόμοιο τρόπο με εκείνον που επιτελεί στον άνθρωπο, στον τύπο I των νευρώνων της GnRH. (Krajewski SJ *et al.*, 2003).

Η οιστραδιόλη φαίνεται να χαλιναγωγεί την γονιδιακή έκφραση της GnRH. Την ημέρα της αιχμής της LH αυτή η καταστολή αναιρείται από σήμα που έμμεσα προκαλείται από την οιστραδιόλη και είναι απαραίτητο για την αιχμή της LH. (Peterson SL *et al.*, 1989). Διάφορες περιοχές του εγκεφάλου και νευρικά συστήματα έχουν προταθεί ως ρυθμιστές των νευρώνων της GnRH σε διαφορετικά είδη ζώων (Kalra SP 1993, Barraclough CA 1994, Wuttke W *et al.*, 1996, Levine JE 1997, Herbison *et al.*, 1998, Mahesh *et al.*, 1998, McCam SM *et al.*, 2002, Bakker J *et al.*, 2000, Caraty A *et al.*, 1998).

Η αιχμή της LH που εξαρτάται από την οιστραδιόλη παρατηρείται στα θηλυκά αλλά όχι στα αρσενικά και ο πρόσθιος κοιλιακός πυρήνας περιλαμβάνει έναν αριθμό φυλετικά διμορφικών συστημάτων νευρομεταβιβαστών και νευροπεπτιδίων τα οποία είναι ευαίσθητα στην οιστραδιόλη και είναι γνωστά για τη ρύθμιση που επιτελούν της απελευθέρωσης της LH. (Herbison AE 1998, Simerly RB 1998).

Νευρώνες στη πρόσθια κοιλιακή περιοχή παρουσιάζουν μια αύξηση στις συγκεντρώσεις του cAMP στα ωοθηκεκτομημένα ζώα όλες τις ημέρες του οιστρικού κύκλου. (Chappel PE *et al.*, 2000)

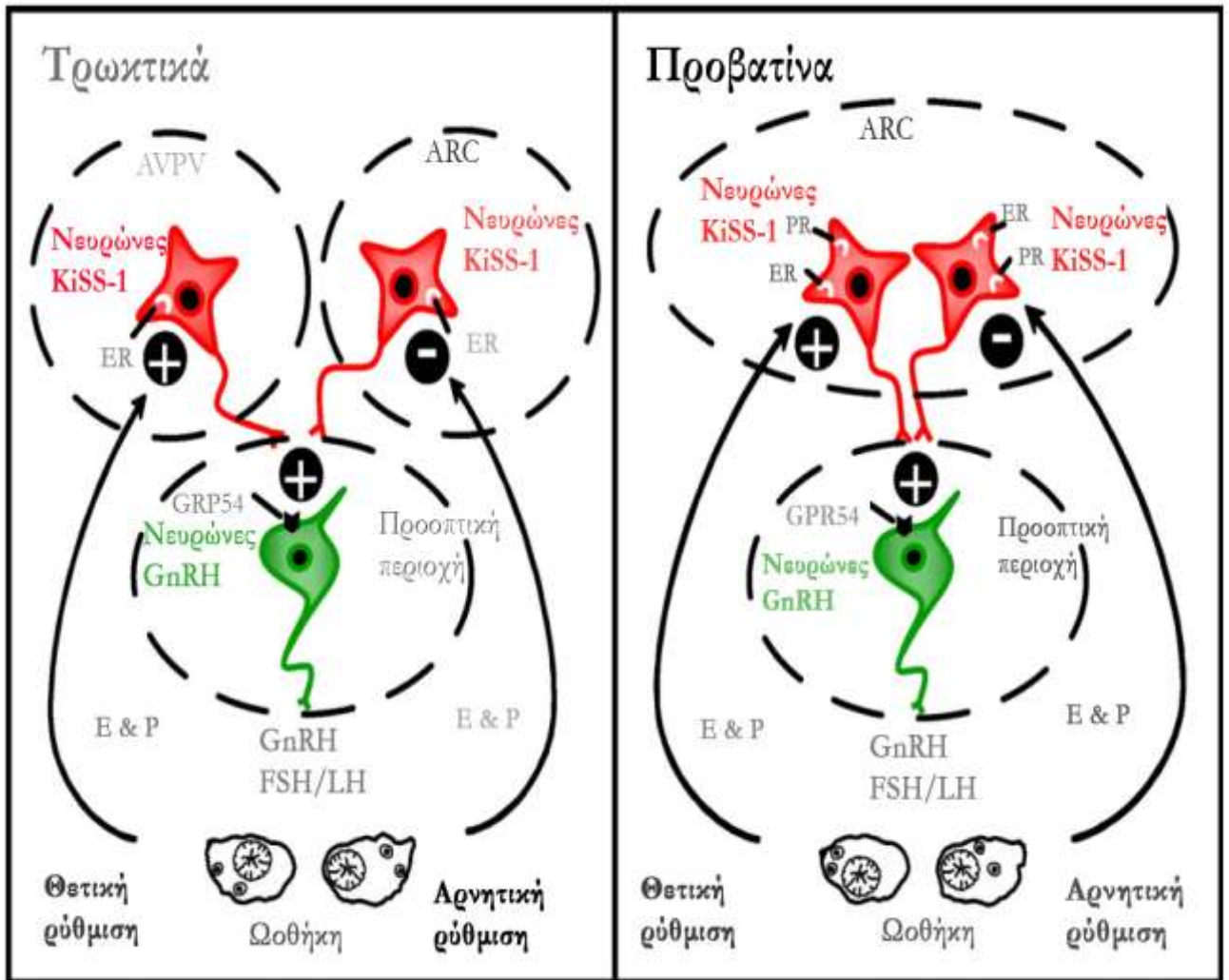
Το ημερήσιο κερκάρδιο σήμα που απαιτείται για την αιχμή της LH το απόγευμα, νευρώνες από τον υπερχιασματικό πυρήνα του υποθαλάμου, προβάλλονται στη πρόσθια κοιλιακή περιοχή, στην οποία συνάπτονται με νευρώνες που περιέχουν ER. (Watson RE *et al.*, 1995, De La Iglesia HO *et al.*, 1999). Αυτά τα στοιχεία υποδηλώνουν την ύπαρξη ενός ημερήσιου κερκάρδιου σήματος επικοινωνίας των νευρώνων της πρόσθιας κοιλιακής περιοχής, το οποίο αντανακλά την αύξηση της συγκεντρώσεως του cAMP, αν και μόνο στα θηλυκά και μόνο παρουσία οιστραδιόλης αυτό το σήμα φτάνει στους νευρώνες της ως αιτία για την υπερέκκριση της αιχμής της LH. Άλλη μία δράση της οιστραδιόλης στην πρόσθια κοιλιακή περιοχή είναι η προώθηση της γονιδιακής έκφρασης του υποδοχέα της προγεστερόνης (PR), μία προώθηση η οποία είναι απαραίτητη για την αιχμή της LH που εξαρτάται από την οιστραδιόλη. (Chappel PE *et al.*, 2000, 1997). Φαίνεται ότι για τη μεταφορά του σήματος που εξαρτάται από την οιστραδιόλη, στους GnRH νευρώνες, σημαντικό ρόλο διαδραματίζουν και οι νευρώνες GABA που υπάρχουν στη πρόσθια κοιλιακή περιοχή καθώς και οι υποδοχείς τους που υπάρχουν στους GNRH νευρώνες. Όπως και το

GABA έτσι και το γλουταμινικό οξύ είναι άφθονο στον POA και η απελευθέρωσή του ρυθμίζεται από την οιστραδιόλη. (Jarry H *et al.*, 1992). Ενεργοποίηση των υποδοχέων του γλουταμινικού οξέως ενεργοποιεί τη γονιδιακή έκφραση της GnRH και την απελευθέρωση LH. (Dhandapani KM *et al.*, 2000 Gore AC *et al.*, 2001, Terasawa *et al.*, 2001).

Πρόσφατα στοιχεία εμφανίζουν την έκφραση KiSS-1 να επηρεάζεται διαφορετικά από τα οιστρογόνα, στον υποθάλαμο και στην υπόφυση, διαφορετικών ειδών θηλαστικών. (Smith JT *et al.*, 2005, Estrada KM *et al.*, 2006).

Η ρύθμιση από την οιστραδιόλη διαφέρει στις διάφορες περιοχές του προσθίου εγκεφάλου μια που το mRNA KiSS-1 διεγείρεται μέσω E2/ERα στον πρόσθιο κοιλιακό και πρόσθιο παρακοιλιακό πυρήνα (AVPV) και στον πρόσθιο κοιλιακό πυρήνα (PeV) του υποθαλάμου αλλά μειώνεται στον τοξοειδή πυρήνα του υποθαλάμου (Arc).

Έχει διατυπωθεί η υπόθεση ότι η διαφορετική ρύθμιση της έκφρασης KiSS-1 από την οιστραδιόλη στις διαφορετικές περιοχές του εγκεφάλου οφείλεται το διαφορετικό ποσοστό των συμπλεγμάτων πρωτεϊνών Sp1 και Sp3 στους υποθαλαμικούς πυρήνες του προσθίου εγκεφάλου. Οι πρωτεΐνες Sp δρουν ως μεταγραφικοί διεγερτές ή καταστολείς προκειμένου να ρυθμίσουν τη γονιδιακή έκφραση. Σε κάποιες περιπτώσεις Sp1 και Sp3 δρουν σε ένα σύμπλεγμα ανταγωνιστικά. Στον πρόσθιο κοιλιακό και στον παρακοιλιακό πυρήνα σημειώνονται υψηλότερα ποσοστά του Sp1 ενδεχομένως ρυθμίζοντας θετική ορμονική ανταπόκριση ενώ στον τοξοειδή πυρήνα τα υψηλότερα ποσοστά Sp3 ίσως μειώνουν την μεταγραφική έκφραση του KiSS-1. (Dali *et al.*, 2007).



Εικόνα 7. Ο μηχανισμός που θεωρείται ότι τα στεροειδή των ωοθηκών ρυθμίζουν τη θετική και την αρνητική παλίνδρομη ρύθμιση του KiSS1, και κατ'επέκταση της εκκρίσεως της απελευθερωτικής ορμόνης των γοναδοτροπινών (GnRH), σε θηλυκό τρωκτικό και στη προβατίνα. Στα τρωκτικά, η οιστραδιόλη (E2) διεγείρει την έκφραση του KiSS1 στον πρόσθιο κοιλιακό και παρακοιλιακό πυρήνα του υποθαλάμου (AVPV) διεγείροντας την έκκριση της GnRH και ρυθμίζοντας τη θετική παλίνδρομη ρύθμιση. Στο τοξοειδή πυρήνα του υποθαλάμου (ARC), η οιστραδιόλη (E2) αναστέλλει την έκφραση του KiSS1, οδηγώντας σε μειωμένη έκκριση της GnRH σχηματίζοντας το δίκτυο για την αρνητική παλίνδρομη ρύθμιση.

Στη προβατίνα, η οιστραδιόλη (E), αναστέλλει την έκφραση του KiSS1 στο τοξοειδή πυρήνα του υποθαλάμου (ARC), και διαμορφώνει την αρνητική

παλίνδρομη ρύθμιση. Υπάρχει η υπόθεση ότι η οιστραδιόλη έχει την ικανότητα να διεγείρει την έκφραση KiSS1 σε έναν διακριτό πληθυσμό κυττάρων του τοξοειδούς πυρήνα του υποθαλάμου (ARC), ρυθμίζοντας με τον τρόπο αυτό τη θετική παλίνδρομη ρύθμιση. (Smith, 2007).

Με τις μέχρι στιγμής ερευνητικές απόψεις, θεωρείται ότι οι κισπεπτίνες εμπλέκονται στη μετάβαση από την αρνητική στη θετική παλίνδρομη ρύθμιση των οιστρογόνων στην έκκριση της GnRH, στη προβατίνα (Estrada *et al.*, 2006), και στον θηλυκό επίμυ (Smith *et al.*, 2006), μετάβαση που είναι ζωτικής σημασίας για την έναρξη της προωθλακιορρηκτικής αιχμής της LH και πρόκλησης της ωοθυλακιορρηξίας. Φαίνεται ότι η αύξηση της ανταπόκρισης της κισπεπτίνης γίνεται την ίδια στιγμή με τη θετική παλίνδρομη ρύθμιση της GnRH.

Θεωρείται ότι η ενισχυμένη ανταπόκριση στη κισπεπτίνη με εξωγενή αιχμή της κισπεπτίνης στον υποθάλαμο κατά τη διάρκεια της προωθλακιορρηκτικής (τέλη ωοθυλακικής) φάσης μπορεί να προκαλέσει αιχμή στην έκκριση της GnRH που οδηγεί στην προωθλακιορρηκτική αιχμή της έκκρισης της LH.

2.6.4. Ο ρόλος των αμινοπεπτιδίων RF στην εποχική αναπαραγωγή

Η τάξη πεπτιδίων με το όνομα Arg – Phe- NH₂ άκρο C που λέγεται αμινοπεπτιδομάδα RF επιδρούν στην αναπαραγωγική νευροενδοκρινική δραστηριότητα. Ειδικότερα στην εποχική αναπαραγωγή φαίνεται ότι δρουν δύο RF αμινοπεπτίδια, η κισπεπτίνη (ή μεταστίνη) και η GnIH (ή RF σχετιζόμενο αμινοπεπτίδιο, RFRP) διαδραματίζουν σπουδαίο ρόλο ως κύριοι ρυθμιστές της δραστηριότητας του άξονα υποθάλαμος – υπόφυση – γονάδες.

Με άλλα λόγια, η κισπεπτίνη συμβάλλει στην ενεργοποίηση του αναπαραγωγικού συστήματος (de Roux *et al.*, 2003, Funes *et al.*, 2003, Seminara *et al.*, 2003) ενώ η GnIH αδρανοποιεί την απελευθέρωση των γοναδοτροπινών από την υπόφυση μέσω δράσης της στον άξονα υποθάλαμος- υπόφυση – γονάδες.

(Tsutsui *et al.*, 2000, Ciccone *et al.*, 2004, Osugi *et al.*, 2004, Bentley *et al.*, 2006b, Kriegsfeld *et al.*, 2006, Ubuka *et al.*, 2006, Johnson *et al.*, 2007).

Το πρόβατο που είναι μικρής ημέρας εποχικής αναπαραγωγής (SD Short Day) και ανταποκρίνεται στην έκκριση της μελατονίνης για μεγάλο χρονικό διάστημα, τα επίπεδα mRNA KiSS-1 στο τοξοειδή πυρήνα του υποθαλάμου, αυξάνονται όταν μικραίνει η μέρα και εισέρχεται το πρόβατο σε αναπαραγωγική περίοδο και μειώνονται όταν μεγαλώνει η μέρα, κατά την άνοιστη περίοδο. (Smith *et al.*, 2006b). Αυτό επιτρέπει την δημιουργία αιχμής LH κατά την αναπαραγωγική περίοδο αλλά την αναστέλλει κατά την άνοιστη περίοδο (μηχανισμός που εμπλέκει το συγχρονισμό της αναπαραγωγής με την διαθεσιμότητα τροφής την άνοιξη). Όμως, η εποχική ενδοκρινική φυσιολογία μπορεί να υπερκερασωθεί, με τη χορήγηση εξωγενούς κισπεπτίνης. Χορήγηση κισπεπτίνης για χρονικό διάστημα 30 ωρών οδήγησε ποσοστό 80% προβατινών σε ωοθυλακιωρηξία στη διάρκεια της άνοιστης περιόδου. (Caraty *et al.*, 2007). Αυτό δείχνει ότι η κισπεπτίνη είναι ένας ισχυρός ρυθμιστής του άξονα υποθάλαμος – υπόφυση- γονάδες, ακόμα και όταν το σύστημα είναι ανενεργό.

Μελέτες σε ωοθυκεκτομημένο πρόβατο αναφέρουν μια συσχέτιση ανάμεσα στην έκφραση της κισπεπτίνης κατά την αναπαραγωγική περίοδο όταν μικραίνει η μέρα, με μία αύξηση των επιπέδων mRNA της κισπεπτίνης στο τοξοειδή πυρήνα του υποθαλάμου κατά τη μετάβαση από τις μακρές φωτοπεριόδους στις γόνιμες μικρές φωτοπεριόδους. Παρόμοια αύξηση έχει παρατηρηθεί και στη προοπτική περιοχή δίχως όμως να είναι αξιοσημείωτη. (Smith *et al.*, 2007).

Ο ρόλος που διαδραματίζει η GnIH στα μικρής φωτοπεριόδου εποχικής αναπαραγωγής ζώα μένει ακόμη να διελευκανθεί.

2.7. Οι Παρόμοιοι με την ινσουλίνη αυξητικοί παράγοντες τάξεως -1 (IGF-1)

Οι IGF-1 αποτελούνται από μία αλυσίδα 79 αμινοξέων με τρεις ενδομοριακούς δεσμούς δισουλφιδίου και έχουν μοριακό βάρος 7649 DA(daltons).

Οι παρόμοιοι με την ινσουλίνη αυξητικοί παράγοντες τάξεως 1 ή IGF-1 ή σωματομεδίνη C, είναι ένα μέλος μιας οικογένειας πολυπεπτιδίων που σχετίζονται με την προΐνσουλίνη. IGF-1 παράγονται στα περισσότερα όργανα αν και η κυριότερη πηγή τους είναι το ήπαρ (Miller *et al.*, 1981, Schwander *et al.*, 1983) και δρουν ενδοκρινικά

στους ιστούς – στόχους ή παρακρινικά ή αυτοκρινικά. IGF-1 συντίθενται επίσης και στον εγκέφαλο, εντός νευρώνων και κυττάρων γλοίας. Η συγκέντρωση των θρεπτικών συστατικών καθώς και της γλυκόζης, των αμινοξέων και των πτητικών λιπαρών οξέων επηρεάζουν την έκκριση των IGF-1 (Kacsóh 2000). Η παραγωγή τους διεγείρεται από την αυξητική ορμόνη και αναστέλλεται με τον υποσιτισμό, από έλλειψη ευαισθησίας στην αυξητική ορμόνη καθώς και από απουσία υποδοχέων για την αυξητική ορμόνη ή από δυσλειτουργίες στην ενδοκυτταρική μεταβίβαση του μηνύματός μέσω υποδοχέα της αυξητικής ορμόνης και των SHP2 και STAT5b. Ποσοστό 98% των IGF-1 είναι συνδεδεμένο με μία από τις 6 πρωτεΐνες σύνδεσής τους (IGF-BP). Η πιο άφθονη πρωτεΐνη σύνδεσης των IGF-1 είναι η IGFBP-3 που συναντάται σε ποσοστό 80% των συνδεδεμένων IGF-1 με πρωτεΐνες. Οι IGF-1 είναι ένας από τους πλέον ισχυρούς φυσικούς ενεργοποιητές του μονοπατιού ενδοκυτταρικής μεταφοράς AKT, λειτουργώντας ως διεγέρτες της κυτταρικής ανάπτυξης και του κυτταρικού πολλαπλασιασμού καθώς και ως ένας ισχυρός αναστολέας του προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου.

Σχεδόν όλοι οι ιστοί βρίσκονται υπό την επίδραση των IGF-1, κυρίως οι μύες, ο χονδρικός ιστός, το ήπαρ, οι νεφροί, τα νεύρα, το δέρμα και οι πνεύμονες. Επίσης οι IGF-1 μπορούν να ρυθμίζουν τη κυτταρική ανάπτυξη και εξέλιξη κυρίως των νευρικών κυττάρων όπως επίσης και τη σύνθεση του DNA.

Όπως φαίνεται και από την ονομασία αυτών των παραγόντων, οι IGF-1 δομικά σχετίζονται με την ινσουλίνη και ενίοτε είναι ικανοί να συνδέονται με τον υποδοχέα της ινσουλίνης με μικρότερη βέβαια συγγένεια από ότι η ινσουλίνη. Οι IGF-1 συνδέονται με τον υποδοχέα τους, IGF-1R και με τον υποδοχέα της ινσουλίνης. Ο IGF-1R είναι ένας υποδοχέας της τυροσίνης κινάσης όπως και ο υποδοχέας της ινσουλίνης, δηλαδή μεταδίδουν το μήνυμα που προέρχεται από τη φωσφορυλίωση του μορίου των συγκεκριμένων τυροσινών.

Οι IGF-1 παράγονται σε ολόκληρη τη διάρκεια του βίου. Τα υψηλότερα ποσοστά τους εμφανίζονται στο νεογέννητο και κατά την ανάπτυξη που συντελείται κατά την ήβη ενώ τα μικρότερα κατά το στάδιο της μεγάλης ηλικίας.

(Katto H *et al.*, 1993, De Meyts P *et al.*, 1995).

2.7.1. Η δράση των παρόμοιων με την ινσουλίνη αυξητικών παραγόντων τάξεως I (IGF-I) στον εγκέφαλο ως ρυθμιστών της αναπαραγωγικής νευροενδοκρινικής λειτουργίας

Οι κυκλοφορούσες συγκεντρώσεις των IGF-1 επηρεάζονται από τα θρεπτικά συστατικά στο πρόβατο και στους ταύρους (Breier *et al.*, 1986, Monget & Martin 1997, Miller *et al.*, 1998, Renaville *et al.*, 2000).

Στις νευροενδοκρινικές περιοχές του εγκεφάλου, κεντρική χορήγηση IGF-1 διαδραματίζει ρόλο στη ρύθμιση των νευροενδοκρινικών λειτουργιών συμπεριλαμβανομένων και απευθείας δράσεων στους νευρώνες της GnRH. Οι νευρώνες GnRH συνθέτουν επίσης IGF-1 και τον υποδοχέα IGF-1 (IGF-1R), και η έκφραση αυτή είναι ρυθμιζόμενη. Ο άξονας της σωματικής ανάπτυξης, όπως και όλα τα νευροενδοκρινικά συστήματα, λειτουργεί μέσω του υποθαλάμου, της υπόφυσης και την αλληλεπίδρασή τους με τα όργανα- στόχους.

Σε υποθαλαμικό επίπεδο ο άξονας της ανάπτυξης αποτελείται από δύο ομάδες νευρώνων που συνθέτουν την απελευθερωτική της αυξητικής ορμόνης GHRH και τους διεγερτικούς και ανασταλτικούς ρυθμιστές αντίστοιχα, της σωματοτροπίνης της υπόφυσης.

(Tannenbaum G *et al.*, 1983, Berelowitz *et al.*, 1981).

Η έκκριση της GH από τον πρόσθιο λοβό της υπόφυσης στη περιφερική κυκλοφορία διεγείρει τη παραγωγή των περιφερικών IGF-1, από το ήπαρ, όπως επίσης και από δευτερογενείς στόχους όπως οι πνεύμονες, τα νεφρά, ο θύμος, ο σπλήνας, η καρδιά, οι μύες και οι γονάδες. (Murphy LJ *et al.*, 1987, Lowe WL *et al.*, 1988, Perks CM *et al.*, 1995). Εκτός από τις δράσεις των IGF-1 στους σωματικούς ιστούς, δρουν επίσης και στο κεντρικό νευρικό σύστημα στο οποίο ο υποδοχέας τους (IGF-1R) είναι ευρέως διαδεδομένος.

Το νευροενδοκρινικό σύστημα που αποτελείται από τους νευρώνες της απελευθερωτικής ορμόνης των γοναδοτροπινών GnRH του υποθαλάμου, της υποφυσιακής γοναδοτρόπης (ωχρινοποιητικής και ωοθυλακιοτρόπο ορμόνη LH &

FSH), και τις γονάδες (ωοθήκες στο θηλυκό και όρχεις στο αρσενικό) είναι υπεύθυνο για τη ρύθμιση της αναπαραγωγής σε όλα τα σπονδυλωτά.

Ειδικότερα στα νευροενδοκρινικά συστήματα, IGF-1 δρουν ως ρυθμιστές παλίνδρομης ρύθμισης της απελευθερωτικής ορμόνης της αυξητικής(GHRH) και των εκκρινικών κυττάρων της σωματοστατίνης(GIH) στον υποθάλαμο. Οι IGF-1, ασκούν αρνητικά αποτελέσματα στην GHRH, μειώνοντας τη κινητοποίησή της στον αδένα της υπόφυσης, ενώ διεγείρουν τους ανασταλτικούς νευρώνες της σωματοστατίνης για περαιτέρω αναστολή της απελευθέρωσης αυξητικής ορμόνης από την υπόφυση. (Tannenbaum G *et al.*, 1983 Berelowitz M *et al.*, 1981 Lackey BR *et al.*, 1999). Οι IGF-1 μπορούν να επιδρούν στον άξονα υποθάλαμος – υπόφυση – γονάδες με δράση στην υπόφυση και σε επίπεδο γονάδων. Αυτή η παρατήρηση σε συνδυασμό με το ρόλο τους στον άξονα της αυξητικής ορμόνης, προωθούν την θεωρία ότι οι IGF-1 μπορεί να λειτουργούν ως σύνδεσμος μεταξύ αναπαραγωγικών και αυξητικών νευροενδοκρινικών συστημάτων.

2.7.2. Κεντρικοί και περιφερικοί παρόμοιοι με την ινσουλίνη αυξητικοί παράγοντες τάξεως 1 (IGF-1)

Οι δράσεις των IGF-1 στον εγκέφαλο οφείλονται στο συνδυασμό των περιφερικών IGF-1 οι οποίοι εισέρχονται στο κεντρικό νευρικό σύστημα, μαζί με τους τοπικούς IGF-1 οι οποίοι συντίθενται μέσα στους νευρώνες και στη γλοία. Επειδή όλες οι επιδράσεις των IGF-1 ρυθμίζονται από τους ίδιους υποδοχείς-στόχους είναι δύσκολος ο προσδιορισμός της προέλευσής τους, αν δηλαδή προέρχονται από τη περιφέρεια ή είναι τοπικά παραγόμενοι.

Οι υποδοχείς IGF-1 εντοπίζονται σε πολυάριθμες περιοχές του εγκεφάλου. Οι δράσεις των IGF-1 στον εγκέφαλο περιλαμβάνουν και τη σύνδεσή τους με πρωτεΐνες (IGFBPs), οι οποίες συντίθενται και κεντρικά αλλά και περιφερικά. Στο κεντρικό νευρικό σύστημα καθώς και σε νευροενδοκρινικές περιοχές εντοπίζονται και συντίθενται οι IGF-1, οι υποδοχείς τους αλλά και οι πρωτεΐνες που συνδέονται με αυτούς. (Lee WH *et al.*, 1992, Gonzalez – Parra S *et al.*, 2001, Werther A *et al.*, 1989, Bondy C *et al.*, 1992, Marks JL *et al.*, 1991, Goodyer CG *et al.*, 1984, Michels KM *et al.*, 1991, Liu F *et al.*,

1991, Bach MA *et al.*, 1991, Rotwein P *et al.*, 1988, Werner H *et al.*, 1989, Garcia – Segura LM *et al.*, 1991, Ocrant I *et al.*, 1990, Bartlett WP *et al.*, 1991, Lesniak MA *et al.*, 1988, Bienvenu G *et al.*, 2003).

2.7.2.1. Περιφερικοί παρόμοιοι με την ινσουλίνη αυξητικοί παράγοντες τάξεως 1 (IGF-1)

Η κυριότερη πηγή των περιφερικών IGF-1 είναι το ήπαρ, όπου η παραγωγή τους διεγείρεται από την αυξητική ορμόνη. (Murphy LJ *et al.*, 1987).

Επιπλέον, και άλλα όργανα του σώματος όπως οι πνεύμονες, οι νεφροί, ο θύμος, ο σπλήνας, οι μύες, ο στόμαχος και οι γονάδες μπορούν να παράγουν IGF-1. Το διαγονιδιακό ποντίκι δίχως το γονίδιο IGF-1 διαθέτει υψηλές συγκεντρώσεις IGF-1 στη κυκλοφορία του αίματός του ως αποτέλεσμα σύνθεσής τους εκτός ήπατος.

Είναι αξιοσημείωτο το γεγονός ότι οι περιφερικοί IGF-1 μπορούν να διαπεράσουν τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό με μηχανισμό όμως που δεν έχει ακόμη διευκρινιστεί. (Pan W *et al.*, 2000, Carro E *et al.*, 2000, Reinhardt R *et al.*, 1994).

Επιπροσθέτως, οι IGF-1 στη κυκλοφορία μπορούν να συνδεθούν με υψηλής συγγένειας IGFbps οι οποίες ρυθμίζουν το ποσό των βιοδιαθέσιμων IGF-1. Οι πρωτεΐνες σύνδεσης των ινσουλινόμορφων αυξητικών παραγόντων τάξεως 1, ρυθμίζουν τα επίπεδα αυτών με την εκτέλεση διαφόρων λειτουργιών, όπως μεταφορά τους έξω από τα αγγεία στη κυκλοφορία, εντοπίζοντας τους σε συγκεκριμένους κυτταρικούς τύπους και ρυθμίζοντας τη σύνδεσή τους με τους υποδοχείς τους και με τις δράσεις τους προωθούν την ανάπτυξη. Ακόμη, οι IGF-1 που συνθέτονται στη περιφέρεια ασκούν τη δράση τους στο νευρικό σύστημα μέσα από σύνθετους και πολύπλοκους μηχανισμούς. (Jones JL *et al.*, 1995, Clemmons Dr 1993).

2.7.2.2. Κεντρικοί παρόμοιοι με την ινσουλίνη αυξητικοί παράγοντες τάξεως 1 (IGF-1).

Οι IGF-1 συνθέτονται στον εγκέφαλο και στο νωτιαίο μυελό. Σε αυτές τις περιοχές οι IGF-1 είναι ένας πιθανός νευροτροπικός παράγοντας για τους νευρώνες και τα κύτταρα γλοίας στη διάρκεια της ανάπτυξης. Στο κεντρικό νευρικό σύστημα του ενήλικου οι IGF-1 είναι ένας ρυθμιστής της πλαστικότητας των συνάψεων, ρυθμίζοντας την επιβίωση των νευρώνων μετά από τραυματισμό. (dePablo F *et al.*, 1995, Torres-Aleman 1999).

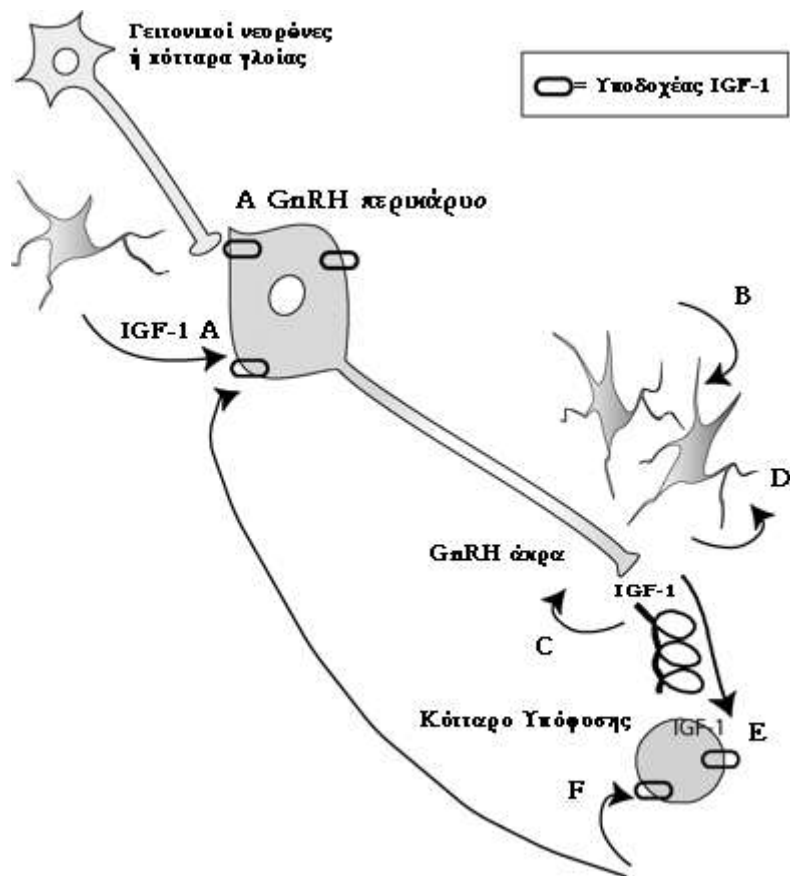
2.7.3. Ρύθμιση των αναπαραγωγικών νευροενδοκρινικών λειτουργιών από τους παρόμοιους με την ινσουλίνη αυξητικούς παράγοντες τάξεως 1

2.7.3.1. Ρύθμιση των παρόμοιων με την ινσουλίνη αυξητικών παραγόντων τάξεως 1 (IGF-1) στους νευρώνες της απελευθερωτικής ορμόνης των γοναδοτρόπων ορμονών (GnRH)

Η βιοσύνθεση και η απελευθέρωση της GnRH είναι υπό τον πολύπλοκο έλεγχο ενός αριθμού διεγερτικών και ανασταλτικών νευρομεταφορέων και νευροτρόπων παραγόντων που μπορούν να δρουν σε διάφορα επίπεδα των κυττάρων GnRH, απευθείας στο περικόρυο (κυτταρόπλασμα νευρώνα) καθώς και σε κάθε μέρος του δενδρίτη ή του άξονα, περιλαμβανομένου των ακροδεκτών στη μεσαία περιοχή (Median Eminence ME).

Οι νευροενεργοποιούμενοι παράγοντες μπορούν να δράσουν έμμεσα στους GnRH νευρώνες μέσω ενδιάμεσων νευρώνων και γλοίας. Ανάμεσα στους πολλούς παράγοντες που εμπλέκονται στη ρύθμιση της GnRH, οι IGF-1 εμπλέκονται στην απελευθέρωση GnRH και των γοναδοτροπινών, στην έναρξη της ήβης και στον έλεγχο της αναπαραγωγικής λειτουργίας κατά την ενήλικη ζωή. Αν και οι διεγερτικές ή ανασταλτικές ή δίχως επίδραση των IGF-1 εξαρτάται από τα είδη, τα φύλα και την

ορμονική κατάσταση, σύμφωνα με τη βιβλιογραφία συνήθως διεγείρουν τους νευρώνες GnRH και τις γοναδοτροπίνες ή έχουν διφασικό αποτέλεσμα.



Εικόνα 8. Σχηματική παράσταση της θεωρίας του τρόπου δράσης των κεντρικών παρόμοιας δράσης με την ινσουλίνη αυξητικών παραγόντων-1 (IGF-1) και η σχέση τους με τους νευρώνες της απελευθερωτικής ορμόνης των γοναδοτροφινών (GnRH).

(A). Στο περικάρυο των GnRH νευρώνων: IGF-1 από τους γειτονικούς υποθαλαμικούς νευρώνες και κύτταρα γλοίας δρουν απευθείας μέσω των υποδοχέων των IGF-1(IGF-1Rs).

- (B). Στα τερματικά άκρα των GnRH νευρώνων: IGF-1 από τους γειτονικούς υποθαλαμικούς νευρώνες ή τα κύτταρα γλοίας δρουν στα tanycytes, τα οποία υφίστανται δομικές μετατροπές, επιδρώντας στην απελευθέρωση της GnRH.
- (C). Από τα τερματικά άκρα των GnRH νευρώνων προς τη μεσαία περιοχή (Median Eminence ME). IGF-1 απελευθερώνονται από τα τερματικά άκρα των GnRH νευρώνων και ασκούν αυτοκρινική δράση στα ίδια τερματικά άκρα των GnRH νευρώνων από τα οποία ελευθερώνονται.
- (D). Από τα τερματικά άκρα των GnRH νευρώνων προς τη μεσαία περιοχή. Οι IGF-1 ελευθερώνονται από τα τερματικά των GnRH νευρώνων και ασκούν παρακρινική δράση στα γειτονικά κύτταρα.
- (E). Από τα τερματικά άκρα των GnRH νευρώνων στα υποφυσιακά γοναδοτρόπα κύτταρα: Οι IGF-1 απελευθερώνονται από τα τερματικά άκρα των GnRH νευρώνων και μεταφέρονται μέσω των αγγείων του πυλαίου συστήματος και ασκούν ενδοκρινική δράση στα υποφυσιακά γοναδοτρόπα κύτταρα ή σε άλλα κύτταρα της υπόφυσης.
- (F). Οι IGF-1 από τη περιφέρεια δρουν συνδεδεμένοι με τους υποδοχείς τους IGF-1Rs στα κύτταρα της υπόφυσης που εκκρίνουν τις γοναδοτροφίνες ή δρουν στη περιοχή του υποθαλάμου. (Daftary SS & Gore A, 2005).

2.7.3.2. Παρόμοιοι με την ινσουλίνη αυξητικοί παράγοντες τάξεως 1 και Γοναδοτροπίνες.

Μελέτες σε επίμυες έδειξαν ότι αύξηση GnRH και επακόλουθη απελευθέρωση LH έλαβε χώρα μετά τη χορήγηση IGF-1 *in vivo*. Οι IGF-1 μπορούν να ασκήσουν επίσης δράσεις στον άξονα Υποθάλαμος- Υπόφυση – Γονάδες μέσω των συνεπειών τους στις γοναδοτροπίνες της υπόφυσης. Ο πρόσθιος λοβός της υπόφυσης εκφράζει IGF-1, τον υποδοχέα τους IGF-1R και τις συνδεδεμένες με αυτούς πρωτεΐνες IGFBPs.

(Gonzalez – Parra S *et al.*, 2001).

Σύμφωνα με τις επιστημονικές ενδείξεις οι IGF-1 παρεμβαίνουν στον άξονα της αυξητικής ορμόνης αλλά και των γοναδοτρόπων ορμονών.

Σε καλλιέργειες κυττάρων υπόφυσης, οι IGF-1 σαφώς αυξάνουν σημαντικά την έκκριση LH, FSH και GnRH. (Kanematsu T *et al.*, 1991, Adam *et al.*, 2000).

Τα αποτελέσματα των IGF-1 που διεγείρουν τον άξονα των γοναδοτροπινών καταστέλλονται από τα αντισώματα anti-IGF-1, anti-IGF-1R, δείχνοντας ότι οι IGF-1 δρουν ακόμη και στο επίπεδο της υπόφυσης προκειμένου να διεγείρουν την έκκριση των γοναδοτροπινών. Οι υποφυσιακές γοναδοτροπίνες είναι ένα επίπεδο στο οποίο οι IGF-1 μπορούν να δράσουν στην λειτουργία του άξονα Υποθάλαμος – Υπόφυση – Γονάδες, πιθανότατα μέσω ενδοκρινικών δράσεων, είτε με μεταφορά στον εγκέφαλο μέσω του πυλαίου συστήματος ή από τη γενική κυκλοφορία αφού ελευθερωθούν από το ήπαρ.

2.7.3.3. Επίδραση των παρόμοιων με την ινσουλίνη αυξητικών παραγόντων τάξεως 1 στην ενήβωση

Στα θηλαστικά, η έναρξη της ήβης περιλαμβάνει την πολύπλοκη αλληλεπίδραση των ορμονών του υποθαλάμου, της υπόφυσης και των γονάδων. Στη διάρκεια αυτής της διαδικασίας σημειώνεται μία αύξηση στο ποσό και στη συχνότητα των παλμών GnRH, η οποία προκαλεί μία διαδοχή γεγονότων που περιλαμβάνουν την αύξηση της δημιουργίας παλμών των FSH και LH, που ακολουθείται από αξιοσημείωτη αύξηση στα παραγόμενα στεροειδή των γονάδων.

Επιπλέον, στη διάρκεια της ενήβωσης, η απελευθέρωση στον ορό αυξητικής ορμόνης GH, που περιλαμβάνει την αύξηση του μεγέθους των παλμών GH δύο με τρεις φορές από την έναρξη της ήβης, και αυτή η αύξηση συσχετίζεται με αυξήσεις στη παραγωγή IGF-1 και συγκεντρώσεων οιστραδιόλης στον όρο του αίματος. (Suter KJ *et al.*, 2000).

Η ενήβωση είναι μία περίοδος ανάπτυξης όπου οι IGF-1 μπορεί να διαδραματίζουν διπλό ρόλο: α) την ρύθμιση της σωματικής ανάπτυξης σε συγχρονισμό με β) το επίτευγμα της αναπαραγωγικής ωρίμανσης.

Στα θηλαστικά, τα επίπεδα των IGF-1 που κυκλοφορούν στο αίμα μεταβάλλονται στη διάρκεια κρίσιμων σημείων της αναπαραγωγικής ζωής στα τρωκτικά, στα μηρυκαστικά και στα πρωτεύοντα συμπεριλαμβανομένων και του ανθρώπου ενώ υπάρχει η πιθανότητα τα αυξημένα επίπεδα τους να επιταχύνουν την έναρξη της ήβης.

Οι Hiney και Dees(Hiney JK *et al.*, 1996) ανέφεραν ότι δύο μορφές της ομάδας των IGF-1 (οι IGF-1a & IGF-1b) αυξάνονται στο ήπαρ αλλά και στη κυκλοφορία του αίματος, κατά τη διάρκεια του πρώτου πρόιστρου, στον οποίο η FSH και η LH διεγείρουν την ανάπτυξη και ωρίμανση των ωοθυλακίων.

Οι ερευνητές των εργαστηρίων φαρμακολογίας του Mount Sinai School of Medicine της Νέας Υόρκης και του Πανεπιστημίου του Τέξας εντόπισαν μία αιχμή mRNA IGF-1 στη προοπτική και στη μεσαία περιοχή, στα P5 και P0 αντίστοιχα του ποντικού, και ύστερα τα επίπεδα mRNA IGF-1 υποβλήθηκαν σε δεύτερη μετεμβρυϊκή αύξηση και αιχμή στην ενήλικη ζωή. (Daftary S & Gore, 2005).

Οι Ye *et al.*, (Ye P *et al.*, 1997) ανέφεραν επίσης μία αιχμή της γονιδιακής έκφρασης στον διεγκέφαλο στο P5 του διαγονιδιακού ποντικού μάρτυρα.

Η πρώτη μετεμβρυϊκή εβδομάδα της ζωής είναι πολύ σημαντική στην ανάπτυξη των συστημάτων της νευροενδοκρινικής αναπαραγωγής.

Στα τρωκτικά δεν είναι μόνο η περίοδος σημαντικών ποσοτήτων δημιουργίας συνάψεων και νευρογλοίας, αλλά είναι επίσης κρίσιμη περίοδος και για τη φυλετική διαφοροποίηση του εγκεφάλου.

Η δεύτερη αιχμή των mRNA IGF-1 στις νευροενδοκρινικές περιοχές ανταποκρίνεται στην περίοδο ανάπτυξης της ενήβωσης.(Gore AC *et al.*, 1999).

Τελικά, το σχέδιο ανάπτυξης της γονιδιακής έκφρασης των IGF-1 στη προοπτική περιοχή είναι εκπληκτικά παρόμοιο με εκείνο της απελευθέρωσης GnRH, που υφίσταται μία μεταβατική αύξηση αμέσως μετά τη γέννηση, μειώνεται στη διάρκεια του «κενού» πριν την ήβη, και μετά αυξάνεται πάλι στη διάρκεια της ωρίμανσης που πραγματοποιείται κατά την ήβη. Ενδέχεται λοιπόν, χρονικά να συμπίπτουν οι παράλληλες αυτές διαδικασίες των IGF-1 και της GnRH αλλά δεν έχει διαλευκανθεί η ύπαρξη συσχέτισης μεταξύ των αιχμών των IGF-1 & GnRH.

Άλλη μελέτη, κατέληξε στο συμπέρασμα ότι είναι ασαφές το εάν επιταχύνεται η έκκριση IGF-1 στη διάρκεια της προηβικής περιόδου επιδρώντας στην αναπαραγωγική ωρίμανση.

Πραγματοποιήθηκε συνεχής χορήγηση IGF-1 σε θηλυκούς επίμυες, αρχίζοντας πριν την ενήβωση, με πρόωρη αύξηση των επιπέδων στον ορό στο επίπεδο των ενηλίκων ή με επίπεδα ανώτερα του φυσιολογικού. Αν και οι IGF-1 επέδρασαν στις παραμέτρους

της σωματικής ανάπτυξης, όπως το σωματικό βάρος δεν κατάφεραν να μεταβάλλουν τον χρόνο έναρξης της ήβης και τη γονιμότητα. Επιπλέον, η αναστολή της έκκρισης αυξητικής ορμόνης GH με παθητική ανοσοποίηση της GHRH του ποντικού μείωσε σημαντικά την έκκριση των IGF-1 με αποτέλεσμα μία καθυστέρηση στην ανάπτυξη, δίχως όμως σημαντικές συνέπειες στο χρόνο της αναπαραγωγικής ωρίμανσης και της γονιμότητας. (Gruaz *et al.*, 1997, 1994).

Αυτή η αδυναμία παρέμβασης στην αναπαραγωγική ωρίμανση αναδεικνύει ότι οι δράσεις των IGF-1 εξαρτώνται ιδιαίτερα από το περιβάλλον των στεροειδών ορμονών και την ανάπτυξη ανάλογα με την ηλικία. Επίσης, το σχέδιο έκκρισης των IGF-1 μπορεί να διαδραματίζει κάποιο ρόλο ενώ η συνεχής χορήγηση να μην μιμείται τη φυσιολογική διαδικασία της απελευθέρωσης.

2.7.4. Αλληλεπιδράσεις των παρόμοιων με την ινσουλίνη αυξητικών παραγόντων τάξεως 1 (IGF-1) και των Οιστρογόνων

Τα αποτελέσματα των IGF-1 ρυθμίζονται από τα επίπεδα των στεροειδών ορμονών των γονάδων. (Erickson GF *et al.*, 1989, Rappaport MS *et al.*, 1996, Yoshimura Y 1998).

Τα οιστρογόνα ρυθμίζουν την έκφραση των IGF-1, IGF-BPs & IGF-1R, πρωτεϊνών και γονιδίων σε διάφορους ιστούς και κυτταρικούς τύπους που σχετίζονται με την αναπαραγωγή όπως η μήτρα, το ενδομήτριο, ο υποθάλαμος καθώς και ωοθηκικά κύτταρα.

Οι IGF-1 με τη σειρά τους ρυθμίζουν την έκφραση και τη λειτουργία των υποδοχέων των οιστρογόνων. Τέτοιες προσθετικές ή συνεργικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ των IGF-1 και των οιστρογόνων έχουν παρατηρηθεί σε επίπεδο υποθαλάμου. Παρατηρήθηκε ότι οι IGF-1 έχουν συνεργική δράση με τα οιστρογόνα για την ανάπτυξη του νευρικού ιστού.

Τα οιστρογόνα διεγείρουν και ελέγχουν τη δραστηριότητα των υποδοχέων των IGF-1R και των IGF-1BPs κατά την ανάπτυξη τους σε καλλιέργειες υποθαλαμικών κυττάρων ενώ οιστρογόνα και IGF-1Rs μαζί απαιτούνται για να διεγείρουν τη διαφοροποίηση των νευρώνων. (Toran- Allerand *et al.*, 1988). Όμως, αν και τα οιστρογόνα μαζί με τους IGF-1 αυξάνουν την επιβίωση των νευρώνων και την ανάπτυξη των νευριτών, το

αποτέλεσμα των δύο αυτών παραγόντων δεν είναι αθροιστικό, γεγονός που δείχνει ότι και οι δύο δρουν μέσω του ίδιου μονοπατιού μεταβίβασης του μηνύματος σε αυτούς τους ιστούς.

(Duenas *et al.*, 1996).

Μελέτες *in vivo* υποστηρίζουν αλληλεπιδράσεις μεταξύ IGF-1 και οιστρογόνων.

Στην ενήβωση οι συγκεντρώσεις και των δύο αυτών ορμονών αυξάνονται δραματικά.

Σε επίπεδο ωοθήκης οι IGF-1 μπορεί να ασκούν τοπικές παρακρινικές επιδράσεις επειδή συντίθενται σε ωοθηκικούς ιστούς. (Perks CM *et al.*, 1995, Murphy LJ *et al.*, 1987).

Οι κυκλοφορούσες συγκεντρώσεις των IGF-1 μπορούν επίσης να δρουν σε IGF-1R υποδοχείς στην ωοθήκη και ως εκ τούτου να ασκούν ενδοκρινικές επιδράσεις.

Στην υπόφυση όπου εκφράζονται IGF-1R υποδοχείς, οι IGF-1 υπηρετούν τη διπλή διαδικασία παλίνδρομης ρύθμισης της αυξητικής ορμόνης της υπόφυσης και επηρεάζοντας την λειτουργία των γοναδοτροπινών, πιθανώς μέσω ενδοκρινικών μηχανισμών.

Στον υποθάλαμο, οι IGF-1 είναι πάλι υποδοχείς του άξονα της αυξητικής ορμόνης (μέσω επιδράσεων στους νευρώνες GHRH και σωματοστατίνης) και του αναπαραγωγικού άξονα (μέσω άμεσων και έμμεσων επιδράσεων στους νευρώνες GnRH). Επειδή οι IGF-1 στον εγκέφαλο μπορούν να προέλθουν από κεντρικές ή περιφερικές πηγές, αυτές οι δράσεις των IGF-1 μπορούν να είναι αυτοκρινικές, παρακρινικές ή ενδοκρινικές.

Σε πολλά λοιπόν επίπεδα του άξονα υποθάλαμος – υπόφυση – γονάδες μπορούν να δράσουν οι IGF-1 προκειμένου να συγχρονίσουν την αναπαραγωγική ωρίμανση με την σωματική ανάπτυξη.

2.7.5. Θεωρίες που έχουν διατυπωθεί για τους ρόλους που διαδραματίζουν οι Παρόμοιοι με την ινσουλίνη αυξητικοί παράγοντες τάξεως 1 (IGF-1)

Έχει προταθεί ότι οι IGF-1, που είναι ένας αυξητικός παράγοντας ο οποίος ρυθμίζει τις φυσιολογικές δράσεις της αυξητικής ορμόνης και είναι προγοναδοτροπικός (Hiney *et al.*, 1991), δρα και ως σήμα που καθορίζει το χρόνο εισόδου στην ήβη (Ojeda *et al.*, 1994). Πραγματικά οι IGF-1 πληρούν τις προϋποθέσεις για να θεωρηθούν μεταβολικό σήμα εισόδου στην ήβη.

Πρώτα από όλα, οι συγκεντρώσεις IGF-1 στο πλάσμα του αίματος αυξάνονται σημαντικά κατά την είσοδο στην ήβη στα τρωκτικά (Handelsman *et al.*, 1987), στα πρωτεύοντα (Copeland *et al.*, 1982) και στο πρόβατο (Roberts *et al.*, 1990).

Δεύτερον, χορήγηση αυτής της ορμόνης στο περί την ήβη θηλυκό επίμυ προάγει την ενήβωση και προκαλεί αύξηση στη συγκέντρωση LH του πλάσματος του αίματος. (Hiney *et al.*, 1996). Δεν είναι γνωστό όμως ακόμη, εάν ανταγωνιστής των IGF-1 καθυστερεί ή εμποδίζει την είσοδο στην ήβη. Μπορεί να υποτεθεί ότι ίσως η λεπτίνη διεγείρει τους IGF-1 αλλά σύμφωνα με τα υπάρχοντα πειραματικά δεδομένα, κεντρική χορήγηση λεπτίνης δεν μπορεί να αποκαταστήσει τις κυκλοφορούσες συγκεντρώσεις IGF-1 σε επίμυες που τελούν υπό νηστεία (ο υποσιτισμός οδηγεί σε μείωση των IGF-1), παρόλο που μπορεί να εμποδίζει τη μείωση της έκκρισης της αυξητικής ορμόνης (οι IGF-1 ρυθμίζουν την έκκριση της αυξητικής ορμόνης με αρνητική παλίνδρομη ρύθμιση). (Vuagnat *et al.*, 1989).

Γενικά ο νευροενδοκρινικός υποθάλαμος, και ειδικότερα οι GnRH νευρώνες εκφράζουν IGF-1 και IGF-1R, υποδηλώνοντας ότι διάφοροι μηχανισμοί μέσω των IGF-1 μπορούν να επιδράσουν στην αναπαραγωγική λειτουργία σε αυτό το επίπεδο. Οι υποφυσιακές γοναδοτροπίνες ανταποκρίνονται στους IGF-1 που μπορεί να προέρχονται από τον εγκέφαλο ή τη περιφέρεια. Θεωρείται ότι ανάλογα με το στάδιο ανάπτυξης και την ορμονική κατάσταση του ζώου, οι IGF-1 μπορεί να ασκούν τις παρακάτω δράσεις, αν και όχι αποκλειστικά.

Νευρώνες ή γλοία στον εγκέφαλο που συνθέτει και απελευθερώνει IGF-1 μπορεί να δρα στο περικάρυο των GnRH και να μετατρέπει τη βιοσύνθεση GnRH ή να την απελευθερώνει.

Στον εγκέφαλο μπορεί να δρουν στα tanycytes, ειδικότερα στη γλοία μέσα σε περιαγγειακές περιοχές συμπεριλαμβανομένου και της μέσης περιοχής, και να μετατρέπουν τη ρύθμιση της GnRH από τους νευρικούς ακροδέκτες από τα tanycytes, επιταχύνοντας την δράση της GnRH στα τριχοειδή αγγεία του πυλαίου συστήματος.

Κεντρικοί IGF-1 μπορεί να ελευθερώνονται από τους νευρώνες της GnRH και να δρουν στα κύτταρα προέλευσής τους με αυτοκρινικό μηχανισμό ή να ρυθμίζουν τη γονιδιακή έκφραση της GnRH (όπως τη βιοσύνθεσή της) ή να προκαλούν αλλαγή στα κύτταρα της GnRH από τα οποία απελευθερώνονται. (Daftary SS *et al.*, 2004, 2003, Miller BH *et al.*, 2001). Οι IGF-1 στη μεσαία περιοχή, είτε προερχόμενοι από τους ακροδέκτες της GnRH ή τοπικά παραγόμενοι μέσα στη γλοία, μπορεί να δρουν με παρακρινικό τρόπο, ασκώντας δράσεις σε άλλους ακροδέκτες στη μεσαία περιοχή. Για παράδειγμα, οι IGF-1 στη μεσαία περιοχή μπορεί να δρουν απευθείας στα άκρα των νευρώνων των GHRH και σωματοστατίνης με το τύπο του παρακρινικού μηχανισμού. Οι IGF-1 καθώς ελευθερώνονται στη μεσαία περιοχή από τους νευρώνες ή και τη γλοία, μπορεί να περνούν μέσω των τριχοειδών αγγείων του πυλαίου συστήματος στο πρόσθιο λοβό της υπόφυσης επηρεάζοντας τα κύτταρα που εκκρίνουν τις γοναδοτροπίνες ή και την αυξητική ορμόνη, ασκώντας ενδοκρινικό αποτέλεσμα. Τέλος, οι περιφερικοί IGF-1 μπορούν να δρουν στις υποφυσιακές γοναδοτροπίνες ή στα κύτταρα του υποθαλάμου ή της μεσαίας περιοχής τα οποία είναι διαπερατά στον αιματοεγκεφαλικό φραγμό, και να ασκούν επίδραση στην λειτουργία του άξονα υποθάλαμος – υπόφυση- γονάδες. Από αυτό μπορεί οι IGF-1 να υπηρετούν τη σημαντική λειτουργία του συγχρονισμού της αναπαραγωγικής λειτουργίας με τη σωματική ανάπτυξη. (Daftary SS & Gore A, 2005, 2003).

2.7.6. Συσχέτιση ανάμεσα στην αντίσταση στην ινσουλίνη κατά την ενήβωση και στον άξονα της αυξητικής ορμόνης και των παρόμοιων με την ινσουλίνη αυξητικών παραγόντων τάξεως 1 (IGF-1) .

Η αντίσταση στην ινσουλίνη μπορεί να οριστεί ως ανεπαρκής ανταπόκριση των οργάνων στόχων (ήπαρ, σκελετικά μυικά κύτταρα και λιπώδης ιστός) σε φυσιολογικά επίπεδα ινσουλίνης πλάσματος. Η παρεμπόδιση της μεταγωγής του σήματος κατά μήκος του φυσιολογικού σηματοδοτικού μονοπατιού της ινσουλίνης φαίνεται πως είναι ο σημαντικότερος μηχανισμός που ευθύνεται για την αντίσταση στην δράση της ορμόνης. Η ινσουλινοαντίσταση οδηγεί σε αντισταθμιστική αύξηση της παραγωγής της ινσουλίνης από τα β- κύτταρα του παγκρέατος, με αποτέλεσμα την εμφάνιση υπερινσουλιναϊμίας. Σε καταστάσεις αντίστασης στην ινσουλίνη, η πρόσληψη γλυκόζης από τα λιποκύτταρα και τα σκελετικά μυικά κύτταρα ελαττώνεται, ενώ η ηπατική παραγωγή γλυκόζης αυξάνεται. Τα παραπάνω οδηγούν σε αυξημένη παραγωγή γλυκόζης από τα β-κύτταρα του παγκρέατος, με σκοπό τη διατήρηση των επιπέδων γλυκόζης πλάσματος στα φυσιολογικά. Όταν ο αντισταθμιστικός μηχανισμός αποτυγχάνει, το αποτέλεσμα είναι η υπεργλυκαιμία (Reaven GM 2005).

Σύμφωνα με τα νεότερα δεδομένα, ο λιπώδης ιστός θεωρείται ένας ενεργός ιστός.

Τα λιποκύτταρα, εκτός από την αποθήκευση ενέργειας, παράγουν πληθώρα βιοδραστικών πεπτιδίων, τις λιποκίνες, που εμπλέκονται στο μεταβολισμό.

Στην παχυσαρκία, παρατηρείται αυξημένη παραγωγή φλεγμονωδών κυτταροκινών από τα λιποκύτταρα, όπως ο TNF- α , η IL-6 και η λεπτίνη, ενώ η παραγωγή της αντιφλεγμονώδους λιποκίνης adiponectin είναι ελαττωμένη. Η διαταραχή της ισορροπίας παραγωγής φλεγμονωδών και αντιφλεγμονωδών λιποκινών από τα λιποκύτταρα δεν ευθύνεται μόνο για τη φλεγμονώδη κατάσταση που σχετίζεται με την παχυσαρκία, αλλά επιπλέον ελαττώνει την ευαισθησία στην ινσουλίνη πολλών οργάνων στόχων, παρεμποδίζοντας την ενδοκυττάρια μεταγωγή του σήματος της ινσουλίνης. (Yusuf S 2005, Kern PA 2003)

Όμως στη διάρκεια της ήβης στον άνθρωπο παρατηρείται φυσιολογικά βαθμιαία αύξηση της αντίστασης στην ινσουλίνη. (Moran *et al.*, 1999, Travers *et al.*, 1995, Amiel *et al.*, 1986, Caprio *et al.*, 1989).

Η μείωση της ευαισθησίας στην ινσουλίνη (S_1 insulin Sensitivity) στη διάρκεια της ήβης, αντισταθμίζεται με μια αύξηση της έκκρισης ινσουλίνης (Carprio *et al.*, 1989).

Αν και ο σκοπός αυτών των μεταβολών δεν έχει πλήρως διελευκανθεί, θεωρείται ότι είναι επιλεκτικός για το μεταβολισμό της γλυκόζης αλλά όχι των πρωτεϊνών (Carprio *et al.*, 1994) παρέχοντας ένα μηχανισμό για την αύξηση των αναβολικών δράσεων της ινσουλίνης και της αυξητικής ορμόνης στη διάρκεια της ραγδαίας σωματικής ανάπτυξης κατά την ήβη. (Carprio *et al.*, 1994).

Υπάρχει η υπόθεση σύμφωνα με την οποία η πτώση της ευαισθησίας στην ινσουλίνη μπορεί να πυροδοτείται από μεταβολές των επιπέδων της αυξητικής ορμόνης κατά την ήβη. (Arslanian *et al.*, 1995, 1997).

Η μείωση της ευαισθησίας στην ινσουλίνη φανερώνει σταθερή ή ανεπαρκή ανταπόκριση των β -κυττάρων του παγκρέατος στη συγκέντρωση της γλυκόζης, της οποίας η αύξηση αποτελεί ερέθισμα εκκρίσεως της ινσουλίνης.

Η μείωση της ευαισθησίας στην ινσουλίνη δεν σχετίζεται με μεταβολές στο σωματικό λίπος, στους IGF-1 ή στα επίπεδα των στεροειδών ορμονών του φύλου.

Η περί την ήβη μείωση της ευαισθησίας στην ινσουλίνη συνοδεύεται από μία αύξηση στην έκκριση της ινσουλίνης.

Ενδέχεται η αυξητική ορμόνη να διαδραματίζει κάποιο ρόλο στην αντίσταση στην ινσουλίνη κατά την ήβη. Αυτή η υπόθεση υποστηρίζεται από το ότι η αυξητική ορμόνη και οι IGF-1 μεταβαίνουν σε υψηλότερα επίπεδα στα μέσα της ήβης.

Η αυξητική ορμόνη επιδρά στα β -κύτταρα του παγκρέατος και έχει παρατηρηθεί σε παιδιά που είχαν ανεπάρκεια αυξητικής ορμόνης να εμφανίζουν μειωμένη ευαισθησία στην ινσουλίνη και η αυξητική ορμόνη επιδρά στα β -κύτταρα του παγκρέατος.

(Merimee *et al.*, 1967, Nielsen *et al.*, 1982).

Η αύξηση της αυξητικής ορμόνης κατά την ήβη αυξάνοντας τη λιπόλυση και τη συγκέντρωση των ελεύθερων λιπαρών οξέων ίσως συμμετέχει και στη πρόκληση της μείωσης της αντίστασης στην ινσουλίνη.

Οι αυξημένες συγκεντρώσεις τεστοστερόνης και οιστραδιόλης δεν σχετίζονται με την αντίσταση στην ινσουλίνη. (Travers *et al.*, 1995). Φαίνεται λοιπόν ότι τα στεροειδή των γονάδων δεν επιδρούν στην ευαισθησία στην ινσουλίνη επειδή αυτά αυξάνονται με την

είσοδο στην ήβη και παραμένουν σε υψηλά επίπεδα ενώ η ευαισθησία την ινσουλίνη επιστρέφει στα φυσιολογικά επίπεδα στο τέλος της ήβης.

Η μείωση της ευαισθησίας στην ινσουλίνη δεν σχετίζεται με μεταβολές στο σωματικό λίπος, τους IGF-1, τη τεστοστερόνη ή την οιστραδιόλη αλλά η αύξηση της ανταπόκρισης της ινσουλίνης σχετίζεται θετικά με την αύξηση κατά την ήβη, της συγκέντρωσης ανδροστενεδιόνης.

Η ανδροστενεδιόνη είναι ο βιολογικός πρόδρομος της τεστοστερόνης και της οιστραδιόλης καθώς και το κυρίαρχο ανδρογόνο στα μέσα της ήβης αγοριών και κοριτσιών.

Θεωρείται ότι η ανδροστενεδιόνη συμβάλλει στην ανάπτυξη των οστών και των μυών στη διάρκεια της ήβης, δίχως όμως να είναι αποτελεσματική η εξωτερική χορήγησή της σε ενήλικες. (Goran & Gower, 2001).

Οι συγκεντρώσεις των IGF-1 ρυθμίζονται καταρχήν από την αυξητική ορμόνη (Daughaday *et al.*, 1989), η οποία είναι γνωστή ως ισχυρός ανταγωνιστής της ινσουλίνης. (Rabinowitz *et al.*, 1965). Η πρόσληψη πρωτεϊνών οδηγεί σε αύξηση των συγκεντρώσεων αυξητικής ορμόνης, IGF-1 και ινσουλίνης που οδηγούν στη σύνθεση πρωτεϊνών και στην ανάπτυξη του σώματος. (Genurth 1983).

Έρευνα σε αγόρια και κορίτσια (Moran *et al.*, 2002) ανέδειξε ότι τα επίπεδα IGF-1 αυξήθηκαν και μετά μειώθηκαν κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης της ήβης, με αντίστοιχη αυξομείωση στην αντίσταση στην ινσουλίνη.

Η ενήβωση διακρίνεται από αυξημένα επίπεδα αυξητικής ορμόνης, αυξημένη έκκριση των στεροειδών των γονάδων, και αυξημένα επίπεδα ινσουλίνης. Όλοι αυτοί οι παράγοντες μπορεί να συμβάλλουν στην αύξηση των IGF-1 και IGFBP-3 πιθανότατα συνεργικά ώστε να ενισχύσουν την ανάπτυξη. Η αυξητική ορμόνη έχει αναβολικά και διαβητογόνα αποτελέσματα, και η αύξηση των επιπέδων των IGF-1 στη διάρκεια της ήβης ίσως να δρα ως ο φυσιολογικός ισορροπιστικός παράγοντας των δράσεων της αυξητικής ορμόνης μια που ρυθμίζουν με αρνητική παλίνδρομη ρύθμιση την έκκριση της απελευθερωτικής ορμόνης της αυξητικής ορμόνης από τον υποθάλαμο.

Τα αποτελέσματα της έρευνας στον άνθρωπο καταλήγουν στο συμπέρασμα ότι ο άξονας GH/ IGF-1 συνεισφέρει στη πρόκληση αντίστασης στην ινσουλίνη κατά την ήβη. (Moran *et al.*, 2002).

2.8. Ορμόνες του Θυρεοειδούς αδένος Θυροξίνη (T4) και Τριιωδοθυρονίνη (T3)

Η αρχική ονομασία του θυρεοειδούς ήταν "λαρυγγικός αδένος". Θυρεοειδής ονομάστηκε το 1656 από τον Warton εξαιτίας του σχήματός του, που μοιάζει με ασπίδα (θυρεός = ασπίδα αριστοκρατικής οικογένειας)(Εγκυκλοπαιδικό Λεξικό «Ηλίου»).

Ο θυρεοειδής αδένος διαδραματίζει σπουδαίο ρόλο στη διατήρηση των παραγωγικών ιδιοτήτων των αγροτικών ζώων. (ανάπτυξη, γαλακτοπαραγωγή, ανάπτυξη τριχώματος) και οι συγκεντρώσεις των θυρεοειδικών ορμονών (T3, T4) στη κυκλοφορία του αίματος θεωρούνται δείκτες του μεταβολικού και διατροφικού καθεστώτος των ζώων. (Riis & Madsen 1985, Todini *et al.*, 2007). Οι μεταβολές των συγκεντρώσεων των θυρεοειδικών ορμονών στο πλάσμα του αίματος αντιστοιχούν σε μεταβολές στη δραστηριότητα του θυρεοειδούς αδένος.

Μελέτες σε ζώα και στον άνθρωπο δείχνουν ότι οι ορμόνες του θυρεοειδούς αδένος διαδραματίζουν σπουδαίο ρόλο στο καρδιαγγειακό, νευρικό, ανοσοποιητικό και αναπαραγωγικό σύστημα. Η θυροξίνη (T4) συντίθενται και εκκρίνεται από τον θυρεοειδή αδένος και μετατρέπεται σε τριιωδοθυρονίνη (T3) με την 5' – μονοϊωδινάση στον θυρεοειδή αδένος και άλλα όργανα κυρίως στο ήπαρ (Kacsoh 2000). Η T3 είναι η βιολογικά ενεργή ορμόνη ενώ η T4 που είναι η κύρια ορμόνη που εκκρίνεται από τον θυρεοειδή αδένος θεωρείται ως πρόδρομος ή προορμόνη. Η T4 σε περιφερικούς ιστούς (όπως στο ήπαρ) αποϊωδιώνεται και οδηγεί στη παραγωγή της T3(η οποία έχει δύο ιώδια στο εσωτερικό δαχτυλίδι και ένα ιώδιο στο εξωτερικό δαχτυλίδι του μορίου της) και στην ανάστροφη T3 (rT3)η οποία έχει ένα ιώδιο στο εσωτερικό δαχτυλίδι και δύο ιώδια στο εξωτερικό δαχτυλίδι του μορίου της, ενώ δεν είναι γνωστό εάν διαδραματίζει κάποιο βιολογικό ρόλο.

Ο θυρεοειδής αδένος του ενήλικου προβάτου περιέχει περίπου 90.4% T4, 8.8% T3 και 0.7% rT3. Περισσότερο από 99.9% της T4 και 99.5% της T3 βρίσκονται στη κυκλοφορία του αίματος συνδεδεμένες με πρωτεΐνες (Chopra *et al.*, 1975). Μόνο η ελεύθερη μορφή της ορμόνης είναι ικανή για τη πρόκληση βιολογικού αποτελέσματος

και οι συνδεδεμένες με πρωτεΐνες ορμόνες δρουν ως αποθηκεύσιμες οι οποίες καθυστερούν τις συνέπειες μείωσης της εκκρίσεως ορμονών από τον αδένά όπως επίσης προφυλάσσουν τον οργανισμό από τις απότομες και ξαφνικές μειώσεις της εκκρίσεως των θυρεοειδικών ορμονών. (Bartalena 1990, Utiger 1995). Η ανάπτυξη του θυρεοειδή και η σύνθεση και έκκριση των θυρεοειδικών ορμονών ελέγχεται σε όλα της τα στάδια από την υποφυσιακή γλυκοπρωτεΐνη θυρεοτροπίνη (TRH). Η λειτουργική δραστηριότητα του θυρεοειδούς αδένά ελέγχεται από την θυρεοειδοτρόπο ορμόνη ή θυρεοτροπίνη (TSH) του προσθίου λοβού της υπόφυσης, και αυτή από την ομόλογή της απελευθερωτική ορμόνη της θυρεοειδοτρόπου ή θυρεοτροπίνης, του υποθαλάμου (TRH).

Οι ελεύθερες μορφές των ορμονών του θυρεοειδούς αδένά ρυθμίζουν την έκκριση TSH, TRH με μηχανισμό παλίνδρομης ρύθμισης. Αύξηση της συγκέντρωσης T_4 , T_3 στο αίμα αναστέλλει την έκκριση των TSH, TRH ενώ μείωση της συγκεντρώσεώς των T_4 και T_3 διεγείρει την έκκριση των TSH και TRH. Οι ορμόνες του θυρεοειδούς αδένά και η απελευθερωτική ορμόνη της θυρεοειδοτρόπου TSH είναι απαραίτητες για τη ρύθμιση της έκκρισης της θυρεοειδοτρόπου ορμόνης TRH. Η σωματοστατίνη αναστέλλει την έκκριση της θυρεοειδοτρόπου ορμόνης (TRH). Η έκκριση της θυρεοειδοτρόπου ορμόνης μπορεί να επηρεαστεί από την αδρεναλίνη και την αγγειοπιεσίνη, τη συγκέντρωση του ιωδίου στο αίμα και από το ψύχος. (Το ψύχος αυξάνει την έκκριση TSH). (Σμοκοβίτης, 2004).

Οι ορμόνες του θυρεοειδούς αδένά αυξάνουν το μεταβολισμό στους περισσότερους ιστούς. Αυξάνουν τη κατανάλωση οξυγόνου, κυρίως στο ήπαρ και στη καρδιά, στους νεφρούς, στους σκελετικούς μύες, στο πάγκρεας, στους σιελογόνους αδένες, στην επιδερμίδα, στον πρόσθιο λοβό της υπόφυσης. (Σμοκοβίτης, 2004). Επίσης διεγείρουν τη παραγωγή θερμότητας σε κάθε κύτταρο του σώματος. Συνολικά αυξάνουν το βασικό μεταβολισμό, καθιστούν τη γλυκόζη περισσότερο προσιτή στα κύτταρα, αυξάνουν το μεταβολισμό των λιπιδίων και διεγείρουν τις καρδιακές και νευρικές λειτουργίες (Capen & Martin, 1989).

Μικρές ή φυσιολογικές ποσότητες T_4 και T_3 έχουν αναβολική επίδραση (αυξάνουν τη σύνθεση πρωτεϊνών). Αντίθετα σε μεγάλες ποσότητες οι T_4 και T_3 έχουν καταβολική

επίδραση και προκαλούν αρνητικό ισοζύγιο αζώτου στον οργανισμό. Ο αυξημένος καταβολισμός πρωτεϊνών στους σκελετικούς μύες μπορεί να τους εξασθενήσει, ενώ ο καταβολισμός των πρωτεϊνών των οστών μπορεί να οδηγήσει σε υπερβολική ελευθέρωση ασβεστίου (υπερασβεστιαμία, υπερασβεστιουρία, οστεοπόρωση). Η θυροξίνη (T4) αυξάνει στο ήπαρ το μεταβολισμό του γλυκογόνου σε γλυκόζη (γλυκογονόλυση) και προάγει το σχηματισμό γλυκόζης από συστατικά που δεν είναι υδατάνθρακες (γλυκονεογένεση).

Οι ορμόνες του θυροειδούς αδένου έχουν θετική χρονοτρόπο και ινοτρόπο επίδραση στη καρδιά, αυξάνουν τον Κατά Λεπτό Όγκο Αίματος (ΚΛΟΑ) κλπ. Αυξάνουν επίσης τον αριθμό και το βάθος των αναπνευστικών κινήσεων. Σε περίπτωση ανεπάρκειας των ορμονών αυτών παρατηρείται μείωση του αριθμού και του βάθους των αναπνευστικών κινήσεων. (Σμοκοβίτης 2004). Η πλειοψηφία των φυσιολογικών δράσεων των ορμονών του θυροειδούς αδένου ρυθμίζονται από την σύνδεσή τους με υποδοχείς στο πυρήνα του κυττάρου. Παλαιότερα επιστεύετο ότι οι ορμόνες του θυροειδούς μεταφέρονται διαμέσου της κυτταρικής μεμβράνης με διάχυση λόγω της λιποφιλικής φύσης τους. Νεώτερες όμως έρευνες έδειξαν ότι υπάρχουν μεταφορείς για τις θυροειδικές ορμόνες. Οι ιωδιοθυρονίνες είναι αδιάλυτες στο νερό και από όταν ελευθερωθούν από την θυρογλουβίνη, συνδέονται γρήγορα με τις πρωτεΐνες του πλάσματος, μεταθυρετίνη (transthyretin) {που λεγόταν παλαιότερα προαλβουμίνη συνδεδεμένη με θυροξίνη}, θυροξίνη ενωνόμενη με γλοβουλίνη (TBG) και αλβουμίνη. Η συγκέντρωσή και η συγγενειά τους με τις T3 και T4 ποικίλει, περίπου το 70% των ορμονών του θυροειδούς που κυκλοφορούν στο αίμα είναι συνδεδεμένες με την TBG. Μόνο ένα μικρό κλάσμα των ορμονών του θυροειδούς που ελευθερώνονται στη κυκλοφορία υπάρχει με την ελεύθερή του μορφή. Σύμφωνα με τη θεωρία των ελευθέρων ορμονών, μόνο οι ελεύθερες θυροειδικές ορμόνες δρουν στα κύτταρα-στόχους. Το 80% της συνολικής ποσότητας των ορμονών που εκκρίνει ο θυροειδής κάθε μέρα είναι T4, αλλά αξιολογείται ως προορμόνη επειδή είναι σχετικά ανενεργής στους υποδοχείς στο πυρήνα των κυττάρων. Ένα ποσοστό της τάξεως του 70-80% της T4 που απελευθερώνεται συγκεντρώνεται από τις δυοιωδινάσες στην βιολογικά ενεργή T3- το ποσοστό που υπολείπεται δεν έχει σημαντική βιολογική δραστηριότητα.

Οι δυοιωδινάσες είναι ασυνήθιστα ένζυμα που περιέχουν σελήνιο το οποίο είναι παρόν σε πολυάριθμους ιστούς και είναι υπεύθυνο για το μεταβολισμό των ορμονών του θυρεοειδούς αδένου. Απομάκρυνση ενός ατόμου ιωδίου από το 5ο άτομο άνθρακα του εξωτερικού δακτυλιδίου της τυροσίνης της T4 από τους τύπους 1 και 2 των δυοιωδινάσων παράγει την T3 ενώ η δυοιωδίωση του εσωτερικού (5) δακτυλιδίου της τυροσίνης από τους τύπους 1 και 3 δυοιωδινάσων παράγει την rT3. Περαιτέρω δυοιωδινάσεις στο 3^ο και 5^ο άτομο άνθρακα του εξωτερικού και εσωτερικού δακτυλιδίου οδηγούν στη παραγωγή ανενεργών και μονοιωδιθυρονινών και ταυτόχρονα διατηρούν ιώδιο. Οι ιωδιοθυρονίνες αποβάλλονται από το ουροποιητικό σύστημα αν και μερικές συγκεντρώσεις T3 και T4 ενώνονται με γλυκουρονίδιο και αποβάλλονται μέσω της χολής στα κόπρανα.

(Taylor & Francis, 2001, Kroneberg 2008).

Σύμφωνα με δεδομένα σε επίμυες και χοίρους, η T4 και περισσότερο η T3 σχετίζονται αρνητικά με την έκκριση της ινσουλίνης (Lenzen, 1978, Ensinger *et al.*, 1981) και μειώνουν το βαθμό εναπόθεσης σωματικού λίπους (York *et al.*, 1978, Ensinger *et al.*, 1981). Μελέτες σε αναπτυσσόμενα αρνιά (Forbes *et al.*, 1979), στο χοίρο (Rogdakis *et al.*, 1979) και στον άνθρωπο (Vagenakis *et al.*, 1975, Chopra and Smith 1975, Merimee and Fineberg 1976, Visser *et al.*, 1978) δεν έχουν διαπιστώσει επιδράσεις της διατροφής στο επίπεδο της T4. Αντίθετα η συγκέντρωση της T3 στη κυκλοφορία μειώνεται σε καταστάσεις νηστείας ενώ παράλληλα παρατηρείται αύξηση της ανάστροφης T3(r-T3) που είναι ανενεργός (Vagenakis *et al.*, 1975, Spaulding *et al.*, 1976, Balsam and Ingbar 1978). Οι τιμές της T3 αποκαθίστανται στα φυσιολογικά επίπεδα μετά τη χορήγηση γλυκόζης (Balsam and Ingbar 1978) ή επιπρόσθετου σιτηρεσίου (Vagenakis *et al.*, 1975, Chopra and Smith 1975).

Το φαινόμενο αυτό οφείλεται στην ελάττωση της μετατροπής της T4 σε T3 στους περιφερειακούς ιστούς (Vagenakis *et al.*, 1977) και στην αντίστοιχη αύξηση της συγκέντρωσης της r-T3, πιθανότατα εξαιτίας μειωμένου ρυθμού μεταβολισμού της (Visser *et al.*, 1978). Συμπερασματικά, φαίνεται ότι η μείωση του επιπέδου της διατροφής δεν επηρεάζει τη συγκέντρωση της T4 αλλά μειώνει τη συγκέντρωση της T3 και αυξάνει τη συγκέντρωση της r-T3. Η αλλαγή αυτή στην αναλογία των ορμονών μπορεί να ερμηνευτεί ως ένας μηχανισμός ελάττωσης της έντασης του γενικού

μεταβολισμού σε καταστάσεις προσαρμογής του οργανισμού κάτω από συνθήκες μειωμένης διαθεσιμότητας θρεπτικών συστατικών.

(Ιωσήφ Μπιζέλη Ηλικία της ήβης και χαρακτηριστικά της πρώτης οιστρικής περιόδου αμνάδων των φυλών Χίου και Καραγκούνικης σε σχέση με το επίπεδο διατροφής Διδακτορική Διατριβή 1989)

Σε περί την ήβη κριούς, υπερθυρεοειδισμός για 8 εβδομάδες μειώνει τη παλμική έκκριση της LH και τη παραγωγή τεστοστερόνης όπως επίσης και την ανάπτυξη των όρχεων και εμποδίζει τη σπερματογένεση. (Chandrasekhar *et al.*, 1985).

Σε θηλυκά που έπασχαν από υποθυρεοειδισμό παρατηρήθηκαν ακανόνιστος ωοθηκικός κύκλος, έλλειψη οίστρου, προβλήματα γονιμότητας. (Σμοκοβίτης, 2004).

Έχει παρατηρηθεί μείωση της κυκλοφορούσης συγκέντρωσης θυροξίνης σε έμβρυα πειραματοζώων έπειτα από νηστεία της μητέρας (Lingas *et al.*, 1999). Μακροπρόθεσμος μητρικός υποσιτισμός μειώνει τα επίπεδα θυροξίνης στο πλάσμα του αίματος στη μητέρα και στο έμβρυο και καταστέλλει την ανταπόκριση LH σε χορήγηση εξωγενούς GnRH στο πρόβατο. (Rae *et al.*, 2002). Ενδέχεται οι θυρεοειδικές ορμόνες να διαδραματίζουν κάποιο ρόλο στα μακροπρόθεσμα αποτελέσματα των διατροφικών μεταβολών στην έκκριση των γοναδοτροπινών στο πρόβατο. Στους επίμυες θυρεοειδεκτομή μειώνει τη διέλευση ορισμένων αμινοξέων (λευκίνη, βαλίνη, λυσίνη) στον εγκέφαλο (Daniel *et al.*, 1975).

Έρευνες στους επίμυες πάλι συνηγορούν στο ότι ο μεταβολισμός της γλυκόζης στον εγκέφαλο αυξάνεται με την αύξηση των συγκεντρώσεων θυροξίνης που κυκλοφορούν στο πλάσμα του αίματος. (Moore *et al.*, 1973).

2.8.1. Αλληλεπιδράσεις διατροφής και ορμονών του θυροειδούς αδένου

Η T3 διεγείρει τη πρόσληψη τροφής σε επίπεδο υποθαλάμου (Kong *et al.*, 2004) και παράλληλα η ποιότητα και η ποσότητα της καταναλωθείσας τροφής είναι ένας σημαντικός παράγοντας που επηρεάζει τις συγκεντρώσεις των ορμονών του θυροειδούς στη κυκλοφορία του αίματος. (Dauncey 1990). Οι κυκλοφορούσες πάντως συγκεντρώσεις των θυροειδικών ορμονών σχετίζονται περισσότερο με τη πρόσληψη

τροφής παρά με τη κατάσταση του λιπώδους ιστού. (Mc Cann *et al.*, 1992, Caldeira *et al.*, 2007).

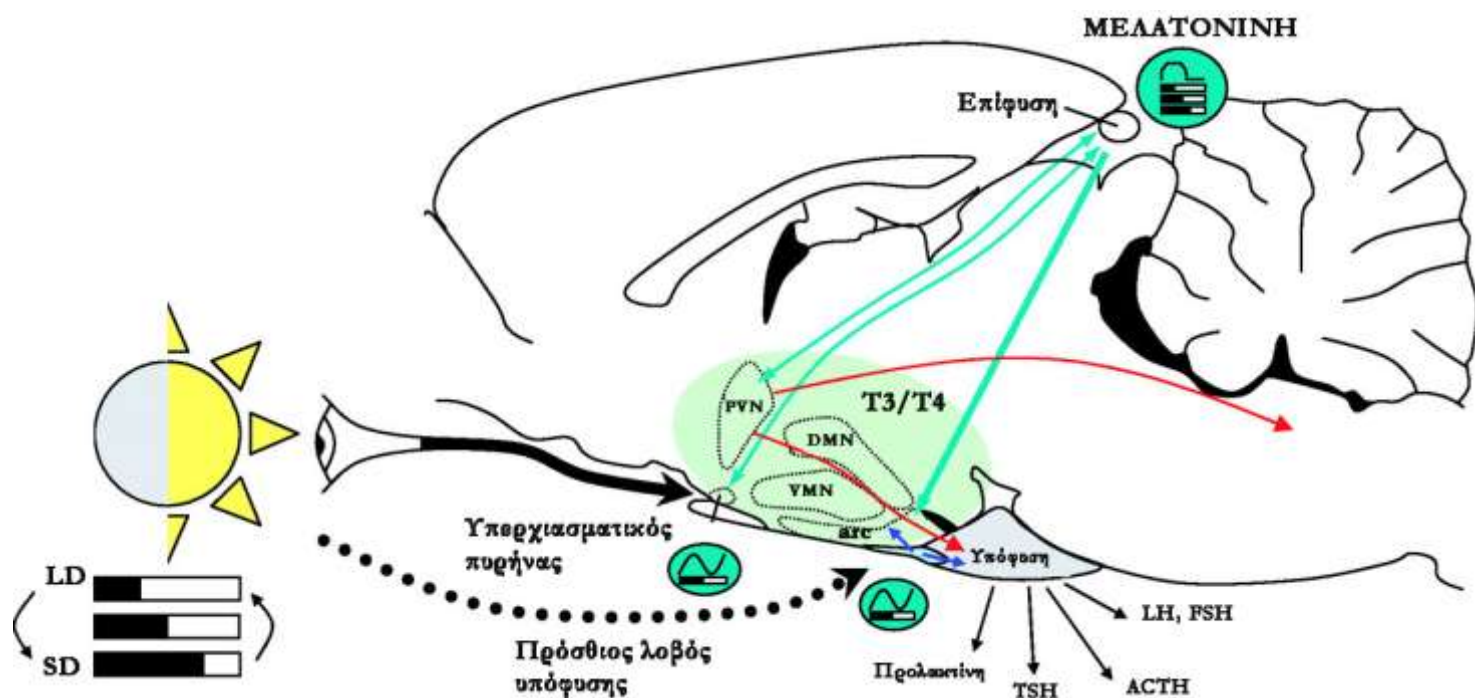
Ενεργειακός υποσιτισμός μειώνει τις συγκεντρώσεις της T3 στο ενήλικο πρόβατο ενώ υπερσιτισμός τις αυξάνει. Οι συνολικές συγκεντρώσεις της T3 στο πλάσμα του αίματος σχετίζονται με το ενεργειακό ισοζύγιο καθώς και με το ισοζύγιο αζώτου. Αντίθετα οι συγκεντρώσεις της rT3 αυξάνονται κατά τον ενεργειακό υποσιτισμό και μειώνονται με τον υπερσιτισμό. (Blum *et al.*, 1980). Οι συγκεντρώσεις T3 στο πλάσμα του αίματος ήταν υψηλότερες σε κριούς που είχαν διατραφεί με σιτηρέσιο πλούσιο σε ενέργεια και πρωτεΐνες. (Zhang *et al.*, 2004).

2.8.2. Φυσιολογικός ρόλος της Τριωδοθυρονίνης (T3) στην αναπαραγωγή

Η T3 επηρεάζει την ωρίμανση των όρχεων του επίμου έχοντας τα κύτταρα Sertoli ως κύτταρα-στόχο. Τα κύτταρα Sertoli συνθέτουν το σπερματικό επιθήλιο του όρχη και είναι σημαντικά για τη φυσιολογική ωρίμανση των σπερματοζωαρίων. Τα κύτταρα του Sertoli είναι τα κύτταρα στόχος της FSH και συνθέτουν μια πρωτεΐνη που δεσμεύει ανδρογόνα, διατηρώντας αυξημένη τη συγκέντρωση των τελευταίων στα σπερματικά σωληνάρια. Συντηρούν ενεργά τον αιματο-ορχικό φραγμό. Δημιουργούν το κατάλληλο περιβάλλον για τη διαφοροποίηση των σπερματοκυττάρων (μηχανική στήριξη και προστασία) Επιπλέον διευκολύνουν την απελευθέρωση των ώριμων σπερματοζωαρίων και απομακρύνουν υπολειμματικό κυτταρόπλασμα κατά τη σπερμιόγνεση (Μπαλάσκας 2006). Έχει προταθεί ότι ο TRα1 είναι μία ειδική ισομορφή TR που εμπλέκεται στη λειτουργία και στην ανάπτυξη των όρχεων, και είναι ο κύριος στόχος της T3 στα κύτταρα Sertoli. Μέγιστος πολλαπλασιασμός των κυττάρων Sertoli γίνεται με τη μέγιστη σύνδεση της T3 στους όρχεις. Μελέτες σε τρωκτικά δείχνουν ότι η T3 είναι σημαντική και για την ωρίμανση των κυττάρων Leydig στο διάμεσο του όρχη. Στα κύτταρα του Leydig παράγονται υπό την επίδραση της διαμεσοκυτταροτρόπου ορμόνης (ICSH, LH) με τη συνέργια FSH και προλακτίνης, οι ανδρογόνες ορμόνες εκ των οποίων η κυριότερη είναι η τεστοστερόνη. (Σμοκοβίτης, 2004).

Η T3 είναι απαραίτητη για την έναρξη της διαφοροποίησης των μεσεγχυματικών κυττάρων προγόνων των κυττάρων Leydig και συνεργάζεται μαζί με άλλες ορμόνες (όπως LH, IGF-I) για τη προαγωγή της ανάπτυξης των κυττάρων του Leydig. Επίσης, στο πρόβατο η δράση των T4/T3 αποτελεί μέρος του νευροενδοκρινικού συστήματος που ρυθμίζει την εποχική αναπαραγωγή. Φαίνεται ότι T4/ T3 προκαλεί το σταμάτημα της αναπαραγωγικής δραστηριότητας στο τέλος της αναπαραγωγικής περιόδου. Επιπροσθέτως, τα επίπεδα της T3 επηρεάζουν τη ρύθμιση του οιστρικού κύκλου, τη συμπεριφορά, τη διατήρηση της κυοφορίας, την εμβρυϊκή ανάπτυξη και τη γαλακτοπαραγωγή στα πειραματόζωα. Η συμπεριφορά του ζευγαρώματος διεγείρεται σε ωοθυκεκτομημένα τρωκτικά με χορήγηση οιστραδιόλης και αναστέλλεται από την T3, υποδηλώνοντας ότι η T3 πιθανότατα ασκεί ανασταλτική επίδραση στην αναπαραγωγική συμπεριφορά η οποία διεγείρεται από τα οιστρογόνα.

Στις προβατίνες τα επίπεδα T4 στο πλάσμα του αίματος είναι υψηλότερα στη διάρκεια του οίστρου και χαμηλότερα στη διάρκεια του ωχρού σωματίου ενώ οι συγκεντρώσεις της T3 είναι υψηλότερες στη διάρκεια της ωχρινικής φάσης ενώ της ανάστροφης T3 (rT3) δεν σχετίζονται με τον οιστρικό κύκλο. (Peeters *et al.*, 1989).



Εικόνα 9. Στα θηλαστικά, η έκκριση της μελατονίνης στη διάρκεια της νύχτας από την επίφυση υπαγορεύεται από το κυρίαρχο κινκάρδιο ρολόι, στον υπερχιασματικό πυρήνα, ο οποίος λαμβάνει τη πληροφορία φωτοπεριόδου από τον αμφιβληστροειδή χιτώνα του οφθαλμού. Τα σήματα μελατονίνης μεταδίδονται με νυχθημερήσιο ρυθμό στον υποθάλαμο και στη υπόφυση, απασχολώντας τις ορμόνες του θυρεοειδούς αδένος με τη τροποποίηση ενζύμων εντός του υποθαλάμου. Τα επίπεδα της T3 στον εγκέφαλο εξαρτώνται από την ανταπόκριση στη φωτοπερίοδο και τις σχετικές δραστηριότητες των αποιωδυνασών ενζύμων, παραγωγής T3 (DIO2) και ανενεργοποίησης T3 (DIO3). Δύο δομές που εντοπίζονται στην εσωτερική επένδυση της τρίτης κοιλίας του εγκεφάλου και του προσθίου λοβού της υπόφυσης και φαίνεται να διαδραματίζουν σπουδαίο ρόλο σε αυτές τις διεργασίες. Τα tanycytes που επενδύουν το εσωτερικό της τρίτης κοιλίας του εγκεφάλου δέχονται πληροφορίες από το σύστημα της πυλαίας κυκλοφορίας

της υπόφυσης όπως επίσης και από τον υπερχιασματικό πυρήνα προς το παρέγχυμα του υποθαλάμου (και πιθανώς και αντίστροφα). Μέσω των ενζύμων DIO2 και DIO3, τα tanocytes μπορούν να επηρεάσουν τα επίπεδα της T3 μέσα στον υποθάλαμο (σκιά πράσινου χρώματος). Σημαντικοί στόχοι των θυρεοειδικών ορμονών εντός του υποθαλάμου περιλαμβάνουν τους νευρώνες της απελευθερωτικής της θυρεοειδοτρόπου ορμόνης TSH καθώς και της GnRH. Ο πρόσθιος λοβός της υπόφυσης είναι γνωστός και την εποχική απελευθέρωση της ορμόνης προλακτίνης και λόγω της εντόπισής του είναι σε θέση να επικοινωνεί με τον υπερχιασματικό πυρήνα του υποθαλάμου καθώς και με το υποφυσιαίο πυλαίο σύστημα κυκλοφορίας.

(David Betchold and Andrew Loudon, 2007).

LD Μακρές ημέρες, SD Μικρές ημέρες, PVN Παρακοιλιακός πυρήνας του υποθαλάμου, DMN Μέσος ραχιαίος πυρήνας, VMN Πλαγιοδιάμεσος πυρήνας,

ARC Τοξοειδής πυρήνας. SCN Υπερχιασματικός πυρήνας, PT Πρόσθιος λοβός υπόφυσης.

2.8.3. Η ορμονική ρύθμιση του θυρεοειδούς αδένου στην εποχική αναπαραγωγή

Οι ορμόνες του θυρεοειδούς διαδραματίζουν σπουδαίο ρόλο στην έκφραση των ενδογενών εποχικών ρυθμών της νευροενδοκρινικής αναπαραγωγικής δραστηριότητας στο πρόβατο όπως και σε πολλά είδη πτηνών. (Nicholls *et al.*, 1988b).

Η θυρεοειδεκτομή αποτρέπει την εποχική (ή φωτοπεριοδική) αναστολή της αναπαραγωγικής δραστηριότητας στους κριούς την άνοιξη. (Nicholls *et al.*, 1988).

Το πρόβατο είναι είδος που αναπαράγεται το φθινόπωρο (όταν μικραίνει η μέρα) και η αναπαραγωγική του περίοδος τερματίζεται την άνοιξη (όταν η μέρα μεγαλώνει).

Η διεξαγωγή ερευνών για το προσδιορισμό του ακριβούς ρόλου των ορμονών του θυρεοειδούς στην εποχική αναπαραγωγή του προβάτου ανέδειξε ότι η T4 είναι απαραίτητη για το τερματισμό της αναπαραγωγικής δραστηριότητας και την είσοδο σε άνοιστη περίοδο. (Billings *et al.*, 2002). Ο θυρεοειδής αδένος είναι απαραίτητος

λοιπόν για τη μετάβαση στην άνοιστρη περίοδο σε διάφορα εποχικά ζώα και στο πρόβατο. Στις προβατίνες είναι απαραίτητη η παρουσία της T3 στο τέλος της αναπαραγωγικής περιόδου προκειμένου να μεταβεί στην άνοιστρη περίοδο, αν και η T3 δεν διαδραματίζει κάποιο ρόλο στη διατήρηση της άνοιστρης περιόδου ή στο χρόνο εισόδου στην επόμενη αναπαραγωγική περίοδο.

Σε μη έγκυες προβατίνες η θυρεοειδεκτομή στη διάρκεια της άνοιστρης περιόδου εμποδίζει τη μετάβαση από την αναπαραγωγική περίοδο στην άνοιστρη περίοδο (Nicholls *et al.*, 1988), αλλά η είσοδος στην επόμενη αναπαραγωγική περίοδο δεν επηρεάζεται (Thrun *et al.*, 1997). Αυτό το αποτέλεσμα της εκτομής του θυρεοειδούς μπορεί να αναχαιτιστεί με την εξωγενή χορήγηση T4 κατά τη διάρκεια της αναπαραγωγικής περιόδου (Webster *et al.*, 1991, Dahl *et al.*, 1995). Συμπληρωματική χορήγηση T4 σε φυσιολογικές προβατίνες μπορεί να περιορίσει την αναπαραγωγική περίοδο και να επιφέρει ταχύτερα την έναρξη της άνοιστρης περιόδου (O' Callaghan *et al.* 1993). Οι ορμόνες του θυρεοειδούς χρειάζεται να είναι παρούσες μόνο για μια μικρή χρονική περίοδο στο τέλος της αναπαραγωγικής περιόδου για την επίτευξη της μετάβασης στην άνοιστρη περίοδο (Thrun *et al.*, 1996). Το ανασταλτικό τους αποτέλεσμα στην εποχικότητα της GnRH και της LH ασκείται στο επίπεδο του κεντρικού νευρικού συστήματος μεταξύ της επίφυσης και του νευροεκκριτικού συστήματος της GnRH και το αποτέλεσμα αυτό είναι ανεξάρτητο από την αρνητική παλίνδρομη ρύθμιση στην έκκριση της TSH. (Webster *et al.*, 1991; Dahl *et al.*, 1994; Viguie *et al.*, 1997). Οι ορμόνες του θυρεοειδούς επιτρέπουν την αύξηση της ανταπόκρισης στην αρνητική παλίνδρομη ρύθμιση που επιτελεί η οιστραδιόλη, αλλά επίσης είναι απαραίτητες και στον εξαρτώμενο από τα στεροειδή μηχανισμό των εποχικών κύκλων στη συχνότητα παλμών της LH. (Anderson *et al.*, 2002). Αυτός ο επιτρεπτικός ρόλος των ορμονών του θυρεοειδούς, TH (Thyroid Hormones) φαίνεται να περιορίζεται από μεταβολές που σχετίζονται με τη μετάβαση στην εποχική άνοιστρη περίοδο, διότι εκτομή του θυρεοειδούς κατά την άνοιστρη περίοδο δεν επηρεάζει την είσοδο στην επόμενη αναπαραγωγική περίοδο (Thurn *et al.*, 1997b).

Πιθανότατα οι TH είναι απαραίτητες για τη μακροπρόθεσμη έκφραση της διατήρησης του ενδογενούς εποχικού αναπαραγωγικού ρυθμού (Billings *et al.*, 2002). Στους κριούς ο ρόλος του θυρεοειδούς αδένου στην εποχικότητα της αναπαραγωγής δεν έχει πλήρως

αποσαφηνιστεί. Θυρεοειδεκτομή απέτυχε να μεταβάλλει την έναρξη σε άνοιστρη περίοδο (Porter *et al.*, 1995) που είναι σύμφωνη με προηγούμενη παρατήρηση θυρεοειδεκτομής σε κριούς (Lowe *et al.*, 1987). Θυρεοειδεκτομή όμως σε αρσενικά πρόβατα οδήγησε στην κατάργηση των εποχικών κύκλων της έκκρισης των γοναδοτροπινών και του μεγέθους των όρχεων. (Parkinson & Follett 1994, Parkinskon *et al.*, 1995).

Οι συγκεντρώσεις των θυρεοειδικών ορμονών είναι υψηλές την άνοιξη (αύξηση του μήκους της ημέρας) και χαμηλές το φθινόπωρο (μείωση του μήκους της ημέρας). Αυτές οι μεταβολές δεν εξηγούνται ικανοποιητικά από τις διακυμάνσεις της θερμοκρασίας.

Φαίνεται ότι όταν οι θερμοκρασίες του περιβάλλοντος δεν είναι ακραίες (ήπιο κλίμα, ενσταβλισμός) είναι παρούσες η επίδραση της φωτοπερίοδου και μηχανισμοί των ορμονών του θυρεοειδούς οι οποίοι εξαρτώνται από την εποχή. (Μενεγάτος *et al.*, 2006, Todini *et al.*, 2006, Zamiri & Khodaei, 2005, Blaszczyk *et al.*, 2004, Souza *et al.*, 2002, Merchant & Riach 2002, Villar *et al.*, 2000a, Taha *et al.*, 2000, Rhing & McMillen, 1995).

Η διαθεσιμότητα της βιολογικά ενεργούς T3 στον υποθάλαμο εξαρτάται από τη τοπική έκφραση δύο ενζύμων: α) Αποιωδιάση τύπου II (DIO2) και β) Αποιωδιάση τύπου III (DIO3). Το DIO2 καταλύει την αντίδραση μετατροπής της T4 σε T3 και το DIO3 συμμετέχει στη μετατροπή της T3 στην ανενεργή ανάστροφη T3(rT3). (Lechan *et al.*, 2005). Πρόσφατες έρευνες ανέδειξαν ότι η διαθεσιμότητα της T3 στον υποθάλαμο εξαρτάται από τις μεταβολές στη γονιδιακή έκφραση των δυοιωδυνασών, οι οποίες εξαρτώνται από τη φωτοπερίοδο. Έκθεση σε μικρές φωτοπερίόδους οδηγεί σε αυξημένη έκφραση του DIO2 στα ζώα μικρής ημέρας εποχικής αναπαραγωγής το οποίο με τη σειρά του οδηγεί στη τοπική μετατροπή της T4 σε T3. Έκθεση σε μακρές φωτοπερίόδους οδηγεί σε καταστολή του DIO2 και σε αύξηση του DIO3.

Σε θυρεοειδεκτομημένα πρόβατα με εμφυτεύματα T4 ο τερματισμός της αναπαραγωγικής λειτουργίας παρατηρείται την άνοιξη, μια εποχή του χρόνου όπου συμβαίνει η μείωση της ενδογενούς εκφράσεως του DIO2 και η αύξηση του DIO3.

Επομένως, όταν μικραίνει η μέρα (όπως το φθινόπωρο) αυξάνεται το DIO2 το οποίο υπαγορεύει τη μετατροπή της T4 στην βιολογικά πιο ενεργή T3 εντός του υποθαλάμου

και το πρόβατο εισέρχεται στην αναπαραγωγική περίοδο. Αντίθετα όταν μεγαλώνει η μέρα (όπως την άνοιξη) μειώνεται το DIO2 με συνέπεια η T4 να μην μετατρέπεται σε T3 εντός του υποθαλάμου αλλά και να μετατρέπεται η T3 στην ανενεργή ανάστροφη T3 με την αύξηση του DIO3 με αποτέλεσμα το πρόβατο να εισέρχεται στην άνοιστρη περίοδο.

Στα θηλαστικά ο αδένας της επίφυσης ελέγχεται από ενδογενές κιρκάδιο μονοπάτι από τον υπερχιασματικό πυρήνα του υποθαλάμου το οποίο ενεργοποιείται με νευρικές ώσεις από τον αμφιβληστοειδή χιτώνα του οφθαλμού. Η παραγωγή της ορμόνης μελατονίνης από την επίφυση λαμβάνει χώρα τη νύχτα και διακόπτεται την ημέρα. Καθώς μεταβάλλεται το μήκος της ημέρας, τα νυχτερινά σήματα της μελατονίνης μεταβάλλονται με αντίστροφη αναλογία (όσο μεγαλώνει η μέρα τόσο μικραίνει η παραγωγή μελατονίνης μια που η μελατονίνη παράγεται μόνο κατά τη διάρκεια της νύχτας) παρέχοντας στον εγκέφαλο μια ενδογενή παρουσίαση των μεταβολών στη φωτοπερίοδο.

Στα θηλαστικά η έκφραση του Gpr50 (G-protein coupled receptor της μελατονίνης) στις κοιλίες του υποθαλάμου συνδυάζεται με τη φωτοπεριοδική ρύθμιση των DIO ενζύμων.

Πρόσφατες έρευνες σε πρόβατο φυλής Soay και στο Ιαπωνέζικο ορτύκι υποστηρίζουν ότι η θυρεοειδοτρόπος ορμόνη (Thyroid Stimulating Hormone) του προσθίου λοβού της υπόφυσης δρα στον μεσοβασικό υποθάλαμο προκειμένου να ρυθμίσει την γονιδιακή έκφραση των tanycyte DIO. (Hanon *et al.*, 2008, Nakao *et al.*, 2008).

Αυτή η εκδοχή είναι εκπληκτική διότι σύμφωνα με αυτήν, ορμόνη που παράγεται στην υπόφυση (θυρεοειδοτρόπος ορμόνη TSH) με την επίδραση της απελευθερωτικής της θυρεοειδοτρόπου του υποθαλάμου (TRH) επιστρέφει στον υποθάλαμο και ρυθμίζει την έκφραση του DIO2 το οποίο είναι υπεύθυνο για το τερματισμό της αναπαραγωγικής περιόδου και εισαγωγής στην άνοιστρη περίοδο στο πρόβατο κατά την άνοιξη.

Σε πρόβατο και ορτύκι, πιστεύεται ότι η έκφραση DIO2 προωθείται από την ενεργοποίηση της σύνδεσης της G πρωτεΐνης με τους υποδοχείς της θυρεοειδοτρόπου (TSH) ορμόνης στα tanycytic κύτταρα, μέσω του c-AMP που διεγείρονται από την TSH. Επειδή το DIO2 προάγεται από μονοπάτια που εξαρτώνται από το c-AMP, η

αυξημένη έκφραση της TSH στην υπόφυση στη διάρκεια του φθινοπώρου οδηγεί σε αυξημένη έκφραση του DIO2 στον υποθάλαμο (Leonard *et al.*, 1988) παρόλες τις μικρές συγκεντρώσεις των θυρεοειδικών ορμονών στη κυκλοφορία του αίματος (Μεναγάτος *et al.*, 2006).

Συμπερασματικά, παρατηρούμε ότι οι ορμόνες του θυρεοειδούς αδένος αποτελούν την ασφαλιστική δεικλίδα για την εποχική αναπαραγωγή του προβάτου προκειμένου να συμβεί αυτή όταν μικραίνει η μέρα ώστε ο τοκετός ως αποτέλεσμα ενδεχόμενης κυοφορίας να λάβει χώρα την εποχή του έτους που αναμένεται άφθονη βλάστηση.

2.9. Αλληλεπιδράσεις λεπτίνης με ινσουλίνη, αυξητικής ορμόνης-παρόμοιων με την ινσουλίνη αυξητικών παραγόντων τάξεως 1 (IGF-1) και ορμονών θυρεοειδούς αδένος

2.9.1. Ινσουλίνη και Λεπτίνη

Λεπτίνη και ινσουλίνη εκκρίνονται στη κυκλοφορία του πλάσματος σε αναλογία με το σωματικό λίπος, και κάθε πεπτιδίο μεταφέρεται στον εγκέφαλο στον οποίο δρα σε συγκεκριμένους υποδοχείς του υποθαλάμου και σε άλλες εγκεφαλικές περιοχές.

(Baurga GD *et al.*, 1993, Banks WA *et al.*, 1996).

Αυξανόμενη δραστηριότητα κάθε πεπτιδίου προκαλεί γενική καταβολική ανταπόκριση (μείωση πρόσληψης τροφής, αυξημένη δαπάνη ενέργειας, μείωση σωματικού βάρους) ενώ μειωμένη δραστηριότητα προκαλεί γενική αναβολική ανταπόκριση (αύξηση πρόσληψης τροφής, μείωση δαπάνης ενέργειας, αύξηση σωματικού βάρους).

Η ινσουλίνη έχει υψηλή συσχέτιση με το σπλαχνικό λίπος ενώ η έκκριση της λεπτίνης σχετίζεται με το υποδόριο λίπος. (Cigolini M *et al.*, 1995, Dua A *et al.*, 1996).

Τα επίπεδα λεπτίνης σχετίζονται άμεσα με τα οιστρογόνα στις γυναίκες (Demerath EW *et al.*, 1999, Wabitsch M *et al.*, 1997), τα οποία οιστρογόνα μειώνουν τη πρόσληψη τροφής και το σωματικό βάρος. (Pinilla L *et al.*, 1999, Wu-Peng *et al.*, 1999).

Αν και δεν έχει αναφερθεί επίδραση των επιπέδων λεπτίνης στον οιστρικό κύκλο, μειώνονται τα επίπεδά της σε ωοθυκετομένα ζώα. (Shimizu H *et al.*, 1997, Yoneda N *et al.*, 1998).

Η ινσουλίνη διεγείρει άμεσα την έκφραση του LEP (ob) γονιδίου σε καλλιέργειες λιποκυττάρων πειραματοζώων και ανθρώπων όπως και σε *in vivo* συνθήκες με υπερινσουλινική αντλία. Η επίδραση αυτή της ινσουλίνης στη σύνθεση και έκκριση λεπτίνης στον άνθρωπο δεν είναι άμεση αλλά εκφράζεται μετά τη παρέλευση 72 ωρών σε αντίθεση με τους επίμυες. Αντίθετα στη φάση της νηστείας η μείωση των επιπέδων της ινσουλίνης ακολουθείται άμεσα από τη πτώση και των τιμών της λεπτίνης. (Saladin *et al.*, 1995, Hardie *et al.*, 1996).

Ενδοεγκεφαλική χορήγηση ινσουλίνης διεγείρει την έκφραση του γονιδίου της λεπτίνης στον υποθάλαμο σε υποσιτισμένα θηλυκά πρόβατα (Daniel *et al.*, 2000) και χρόνια υπερινσουλιναιμία αυξάνει τις συγκεντρώσεις λεπτίνης του πλάσματος σε γαλακτοπαραγωγές αγελάδες κατά τη γαλουχία (Block *et al.*, 2003).

Κεντρική έκχυση ανασυνδυασμένης λεπτίνης προβάτου ενισχύει τις συγκεντρώσεις ινσουλίνης σε κρεωπαραγωγικές αγελάδες υπό νηστεία (Amstalden *et al.*, 2002, Zieba *et al.*, 20003a). Μικρή δόση λεπτίνης στα β κύτταρα του παγκρέατος επίμυων αυξάνει τη βασική έκκριση της ινσουλίνης (Tanizawa *et al.*, 1997). Όμως, υψηλές δόσεις λεπτίνης καταστέλλουν τη παραγωγή ινσουλίνης από τα β κύτταρα του παγκρέατος σε ανθρώπους αλλά και ποντίκια. (Kieffer *et al.*, 1997, Seufert *et al.*, 1999).

2.9.2 Λεπτίνη και παρόμοιοι με την ινσουλίνη αυξητικοί παράγοντες τάξεως 1 (IGF-1)

Οι μελέτες επίδρασης των IGF-1 στη λεπτίνη αναδεικνύουν αντικρουόμενα αποτελέσματα. Σύμφωνα με κάποιους ερευνητές, οι IGF-1 δεν αλλάζουν το ποσοστό του σωματικού λίπους ή των επιπέδων mRNA λεπτίνης σε ιστό σπλαχνικού λίπους επίμυων Zucker (Isozaki *et al.*, 1999) ενώ σύμφωνα με άλλους, οι IGF-1 μειώνουν τα επίπεδα mRNA λεπτίνης στον ιστό λίπους της επιδιδυμίδας επίμυων στους οποίους έχει αφαιρεθεί η υπόφυση (Boni-Schnetzler *et al.*, 1996). Οι Boni-Schnetzler *et al.*, έδειξαν ότι χορήγηση IGF-1 ανθρώπου σε έξι διαδοχικές ημέρες με δοσολογία 1 mg/ ημέρα, μείωσαν τα επίπεδα mRNA λεπτίνης στο λίπος της επιδιδυμίδας παχέων επίμυων (κατά 38,8%) και μείωσαν τις συγκεντρώσεις της κυκλοφορούσης λεπτίνης (κατά 51,6%) συγκριτικά με τους επίμυες που χρησιμοποιήθηκαν ως μάρτυρες. Το βάρος Fat pad

μειώθηκε επίσης (κατά 60,3%). Αυτοί οι ερευνητές συμπεραίνουν ότι η μείωση που προκαλούν οι IGF-1 στη μάζα Fat pad πιθανότατα οφείλεται στη μείωση της έκκρισης ινσουλίνης και στην κινητοποίηση του λίπους και την αύξηση της οξείδωσης των λιπαρών οξέων. Σαν αποτέλεσμα, τα επίπεδα mRNA και οι κυκλοφορούσες συγκεντρώσεις λεπτίνης μειώνονται εξίσου.

(Boni- Schnetzler *et al.*, 1999)

2.9.3 Λεπτίνη και ορμόνες θυρεοειδούς αδένου

Κεντρική χορήγηση λεπτίνης αυξάνει τα επίπεδα T3 του πλάσματος μέσω ενεργοποίησης της μετατροπής της T4 σε T3 στους επίμυες (Cusin *et al.*, 2000).

Επίμυες με υπερθυρεοειδισμό εμφάνισαν υψηλά επίπεδα mRNA λεπτίνης και αυξημένη έκκριση λεπτίνης, κατάσταση όμως που αντιστράφηκε με τη χορήγηση T3 (Escobar-Moreale *et al.*, 1997, Fain & Bahouth 1998).

Σε επίμυες όμως με υποθυρεοειδισμό έχουν αναφερθεί αντικρουόμενα αποτελέσματα σύμφωνα με τα οποία οι συγκεντρώσεις λεπτίνης του πλάσματος, αυξήθηκαν ή έμειναν αμετάβλητες (Syed *et al.*, 1999, Wang *et al.*, 2000).

Στον άνθρωπο, σε υπερθυρεοειδικούς ασθενείς τα επίπεδα λεπτίνης έχουν βρεθεί χαμηλά με την ακόλουθη αύξησή τους μετά τη χορήγηση θεραπείας αποκατάστασης. Η αντίθετη όμως εικόνα στον υποθυρεοειδισμό δεν υφίσταται όπως θα περίμενε λογικά κανείς.

Η λεπτίνη φαίνεται ότι εμπλέκεται έμμεσα στη θυρεοειδική λειτουργία, με δράση στο κεντρικό νευρικό σύστημα, και επηρεασμό της εκκριτικής δραστηριότητας των TRH νευρώνων στον παρακοιλιακό υποθαλαμικό πυρήνα.

Η μείωση της λεπτίνης κατά την ασιτία έχει σαν συνέπεια τη μειωμένη έκφραση του mRNA TRH, είτε έμμεσα διαμέσου τροποποίησης της δραστηριότητας των NPY/POMC στον τοξοειδή πυρήνα είτε άμεσα με απευθείας δράση στους TRH νευρώνες.

2.9.4. Λεπτίνη και αυξητική ορμόνη

Η αυξητική ορμόνη Growth Hormone (GH) είναι ένα πολυπεπίδιο 22 K-Da το οποίο παράγεται από τον πρόσθιο λοβό της υπόφυσης με την επίδραση της απελευθερωτικής της αυξητικής ορμόνης του υποθαλάμου, και έχει προταθεί ότι διαδραματίζει κάποιο ρόλο στη ρύθμιση της πρόσληψης τροφής και του ενεργειακού ισοζυγίου (Renaville *et al.*, 2002), ενδεχομένως με αλληλεπίδραση με τη λεπτίνη.

Εξωγενής χορήγηση GH αυξάνει τα επίπεδα mRNA λεπτίνης στον λιπώδη ιστό σε ευνουχισμένους τάυρους (Houseknecht *et al.*, 2000).

Ενδοεγκεφαλική χορήγηση λεπτίνης αύξησε τις κυκλοφορούσες συγκεντρώσεις αυξητικής ορμόνης στο υποσιτισμένο για μεγάλο χρονικό διάστημα πρόβατο (Henry *et al.*, 2001a) και χορήγηση λεπτίνης προήγαγε την έκκριση αυξητικής ορμόνης σε μοσχεύματα αδενούποφους, από αγελάδες που είχαν υποστεί νηστεία. (Zieba *et al.*, 2003b).

Χορήγηση αυξητικής ορμόνης αυξάνει τις συγκεντρώσεις στο πλάσμα του αίματος, ινσουλίνης και IGF-1 καθώς και mRNA IGF-1 στον λιπώδη ιστό βοοειδών. (Vanderkooi *et al.*, 1995, Houseknecht *et al.*, 2000).

3. ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟ ΜΕΡΟΣ

**Υπολογισμός μεταβολικών ορμονών στην περί την ήβη
περίοδο**

3.1 ΣΚΟΠΟΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Η παρούσα εργασία αποτελεί μία προσέγγιση στη κατανόηση των φυσιολογικών μηχανισμών δράσης των μεταβολικών ορμονών για την είσοδο της ήβης στο πρόβατο. Ο σκοπός της εργασίας ήταν ο υπολογισμός των συγκεντρώσεων μεταβολικών ορμονών σε αρσενικούς και θηλυκούς αμνούς το χρονικό διάστημα εισόδου τους στην ήβη καθώς και η διερεύνηση τυχόν συσχετίσεων μεταξύ των ορμονών και του σωματικού βάρους.

Από την ηλικία των 5 μηνών ελήφθησαν δείγματα αίματος δύο φορές εβδομαδιαίως. Στα δείγματα αυτά προσδιορίστηκαν τα επίπεδα της προγεστερόνης και της τεστοστερόνης με σκοπό να προσδιοριστεί η ηλικία ενήβωσης των αμνών. Για τους θηλυκούς αμνούς ως ηλικία ενήβωσης θεωρήθηκε εκείνη κατά την οποία η συγκέντρωση της προγεστερόνης στον ορό του αίματος ήταν μεγαλύτερη από 1 ng / ml για δύο συνεχόμενες αιμοληψίες. Στους αρσενικούς αμνούς θεωρήθηκε ως ηλικία ενήβωσης εκείνη κατά την οποία η συγκέντρωση της τεστοστερόνης ήταν μεγαλύτερη από 1 ng /ml για δύο συνεχόμενες αιμοληψίες.

Μετρήθηκαν οι συγκεντρώσεις ινσουλίνης, λεπτίνης, τριωδοθυρονίνης και των παρόμοιων με την ινσουλίνη αυξητικών παραγόντων τάξεως 1 (IGF-1) στον ορό του αίματος αμνών και των δύο φύλων το χρονικό διάστημα εισόδου τους στην ήβη. Επειδή στις αμνάδες η πρώτη ωοθυλακιορρηξία δεν συνοδεύεται από έκδηλα συμπτώματα οίστρου χρησιμοποιήθηκε η μέτρηση της προγεστερόνης στο αίμα ως πιστότερη μέθοδος για τη διαπίστωση σιωπηλών ωοθυλακιορρηξιών (Ρογδάκης, 2004).

3.2 ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Το εργαστηριακό μέρος της παρούσας εργασίας έλαβε χώρα στις σταβλικές εγκαταστάσεις και στα εργαστήρια του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών.

Στα πλαίσια του εργαστηριακού μέρους χρησιμοποιήθηκαν έξι θηλυκοί αμνοί φυλής Χίου και επτά αρσενικοί αμνοί φυλής Χίου. Οι αρσενικοί και οι θηλυκοί αμνοί ακολούθησαν πρόγραμμα διατροφής κατά βούληση.

Διεξάχθηκε πρόγραμμα αιμοληψιών ανά δεκαπενθήμερο από όταν τα ζώα ήταν στην ηλικία των 105 ημερών (3 Μαΐου) μέχρι την ηλικία των 300 ημερών (22 Νοεμβρίου). Μετά από φυγοκέντρηση στα δείγματα αίματος παραλήφθηκε ο ορός αίματος ο οποίος διατηρήθηκε σε κατάψυξη (-40° C) μέχρι τη διεξαγωγή των αναλύσεων.

Το σιτηρέσιο εχορηγείτο καθημερινά ομαδικώς σε δύο ισόποσα γεύματα στις 8:00 και 16:00 και αποτελείτο από εμπορικό μίγμα συμπυκνωμένων ζωοτροφών (ΦΥΡΚΟ, Κόρινθος, Ελλάδα), χόρτο μηδικής και άχυρο σίτου. Το μίγμα αποτελείτο από καλαμπόκι, κριθάρι, πίτυρα σίτου, βαμβακόπιτα, μαρμαρόσκονη, φωσφορικό διασβέστιο, αλάτι και ισορροπιστή βιταμινών και ιχνοστοιχείων.

Η χημική σύσταση του χορηγούμενου μίγματος ήταν ως ακολούθως:

ΠΙΝΑΚΑΣ 1 Χημική σύσταση χορηγούμενου μίγματος

Συστατικό	Περιεκτικότητα (Kg Μίγματος)
Ενέργεια (ΚΕΓ)	7 MJ
Ξηρά Ουσία	880g
Ολική Πρωτεΐνη	115g
Ολικό Λίπος	35g
Ινώδεις Ουσίες	65g
Ασβέστιο	12g
Ολικός Φωσφόρος	9g
Αλάτι	5g
Βιταμίνη Α	10000ΔΜ
Βιταμίνη D3	2000ΔΜ
Βιταμίνη Ε	15mg

Πίνακας 2. Ποσότητες και χαρακτηριστικά χονδροειδών ζωοτροφών

Ποσότητα Τροφής (g)	Ξηρά Ουσία (Kg)	Ενέργεια (MjΚΕΓ)	Πεπτές Αζωτούχες (g)	Ινώδεις Ουσίες (g)
200g μηδική	0,17	0,7	18	62
600g άχυρο σίτου	0,53	1,7	1,8	240
Σύνολο	0,70	2,40	20	302

Ο υπολογισμός εισόδου στην ήβη έγινε με τη μέτρηση της προγεστερόνης στα θηλυκά και θεωρήθηκε ως ημερομηνία εισόδου στην ήβη εκείνη που ήταν 3 ημέρες πριν την αιμοληψία που έδειξε συγκέντρωση ορμόνης 1 ng/ml ή και περισσότερο. Και αυτό γιατί η παραγωγή της προγεστερόνης αρχίζει στη ωχρινική φάση του οιστρικού κύκλου η οποία διαρκεί 14-15 ημέρες ενώ ήδη έχουν προηγηθεί 2-3 ημέρες της φάσεως της ωοθυλακικής ανάπτυξης στην οποία δεσπόζει η παραγωγή οιστραδιόλης.

Ως ημερομηνία εισόδου στην ήβη για τα αρσενικά θεωρήθηκε η πρώτη ημερομηνία που η συγκέντρωση της τεστοστερόνης ήταν μεγαλύτερη από 1 ng /ml και οι επόμενες διαδοχικές αιμοληψίες είχαν συγκέντρωση τεστοστερόνης περισσότερο από 1 ng /ml.

Η μέση ηλικία ενήβωσης των θηλυκών αμνών ήταν 217 ± 33 μέρες και η μέση ηλικία ενήβωσης των αρσενικών αμνών ήταν 190 ± 7 μέρες.

Στους ορούς αίματος μετρήθηκαν οι ορμόνες λεπτίνη(Leptin), ινσουλίνη(Insulin), οι ινσουλινόμορφοι αυξητικοί παράγοντες τάξεως 1 (IGF-1) και τριωδοθυρονίνη (T3) με τη μέθοδο της ραδιοανοσοδοκιμασίας Radio Immune Assay (RIA). Για τη μέτρηση της συγκεντρώσεως των ορμονών χρησιμοποιήθηκε ο μετρητής γ ακτινοβολίας Wizard 1470, (Perkin Elmer, Norway).

Για τη μέτρηση της προγεστερόνης χρησιμοποιήθηκε το KIT Coat – A – Count της DPC

Με ευαισθησία της μεθόδου 0,02 ng/ ml.

Η διακύμανση των προσδιορισμών εντός της μεθόδου (Inter Assay Variance) είναι 4,0% CV και η διακύμανση μεταξύ των προσδιορισμών (Inter Assay Variance) 5,7% CV.

Για τη μέτρηση της τεστοστερόνης χρησιμοποιήθηκε το KIT TESTO-RIA-CT, KIP1709, (BioSource, Belgium).

Η διακύμανση εντός της μεθόδου (Intra Assay Variance) είναι 3,3% CV και η διακύμανση μεταξύ των προσδιορισμών είναι 4,8% CV.

Για τη μέτρηση της λεπτίνης χρησιμοποιήθηκε το Multi-Species Leptin Ria KIT της Linco Research με ευαισθησία 1,0 ng/ml και διακύμανση προσδιορισμών εντός της μεθόδου (Intra Assay Variance) 5,1 % CV και διακύμανση μεταξύ των προσδιορισμών (Inter Assay Variance) 9,5% CV.

Για τη μέτρηση της ινσουλίνης χρησιμοποιήθηκε το Rat Insulin RIA KIT της Linco Research το οποίο έχει ειδικευση αντισώματος (specificity) για την ινσουλίνη του προβάτου 100%. Η ευαισθησία της μεθόδου είναι 0,1 ng/ml. Η διακύμανση προσδιορισμών εντός της μεθόδου (Intra Assay Variance) είναι 4,3% CV και η διακύμανση μεταξύ των προσδιορισμών (Inter Assay Variance) 8,5% CV.

Για τη μέτρηση της τριωδοθυρονίνης χρησιμοποιήθηκε το KIT T3 Coat – A – Count της DPC με ευαισθησία της μεθόδου 0,07 ng/ml.

Η διακύμανση προσδιορισμών εντός της μεθόδου (Inter Assay Variance) είναι 5,9% CV και η διακύμανση μεταξύ των προσδιορισμών (Inter Assay Variance) είναι 6,6% CV.

Για τη μέτρηση των παρόμοιων με την ινσουλίνη αυξητικών παραγόντων τάξεως -1, (IGF-1) χρησιμοποιήθηκε το KIT Active Non- Extraction IGF-I IRMA της DSL με ευαισθησία της μεθόδου 2,06 ng /ml και ειδικευση αντισώματος για IGF-1 ορού προβάτου 100%.

Η διακύμανση προσδιορισμών εντός της μεθόδου (Inter Assay Variance) είναι 3,9% CV.

Και η διακύμανση μεταξύ των προσδιορισμών (Inter Assay Variance) είναι 4,2% CV.

3.2.1. Αρχές των μεθόδων ανάλυσης που χρησιμοποιήθηκαν:

Για τον υπολογισμό της τεστοστερόνης, της προγεστερόνης, της λεπτίνης και της ινσουλίνης χρησιμοποιήθηκε η συναγωνιστική ραδιοανοσοδοκιμασία.

3.2.2. Για τον υπολογισμό της τεστοστερόνης και της προγεστερόνης:

Η αρχή της μεθόδου έγκειται, στη παρουσία σταθερής ποσότητας τεστοστερόνης και σταθερής ποσότητας προγεστερόνης σημασμένων με ^{125}I που ανταγωνίζονται με την τεστοστερόνη και τη προγεστερόνη αντίστοιχα των προς μέτρηση δειγμάτων για σταθερή ποσότητα θέσεων αντισωμάτων που είναι ακινητοποιημένα στο τοίχωμα ενός σωληναρίου πολυστυρενίου.

3.2.3 Για τον υπολογισμό της ινσουλίνης και της λεπτίνης:

Η αρχή της μεθόδου έγκειται, στη παρουσία σταθερής ποσότητας λεπτίνης και σταθερής ποσότητας ινσουλίνης σημασμένων με ^{125}I που ανταγωνίζονται με τη λεπτίνη και την ινσουλίνη αντίστοιχα, των προς μέτρηση δειγμάτων για σταθερή ποσότητα θέσεων αντισωμάτων. Έτσι, το ποσοστό σύνδεσης αντιγόνου – αντισώματος μειώνεται όσο η συγκέντρωση του μη σημασμένου αντιγόνου του δείγματος αυξάνεται.

3.2.4. Για τον υπολογισμό της τριωδοθυρονίνης

Χρησιμοποιήθηκε η Solid-Phase Μη συναγωνιστική ραδιοανοσοδοκιμασία:

Η αρχή της μεθόδου έγκειται, στη παρουσία σταθερής ποσότητας τριωδοθυρονίνης σημασμένης με ^{125}I που ανταγωνίζεται με τη τριωδοθυρονίνη του δείγματος για σταθερή ποσότητα θέσεων αντισωμάτων που είναι ακινητοποιημένα στο τοίχωμα ενός σωληναρίου πολυστυρενίου.

Η αντίδραση λαμβάνει χώρα με παρουσία εμποδιστικών παραγόντων οι οποίοι εξυπηρετούν την απελευθέρωση της συνδεδεμένης τριωδοθυρονίνης από τις πρωτεΐνες – φορείς της. Έτσι η μέθοδος υπολογίζει τη συνολική ποσότητα T3 του δείγματος, την ελεύθερη και τη συνδεδεμένη με πρωτεΐνες. Και οι δύο μορφές της T3 του δείγματος είναι ικανές να ανταγωνιστούν την σημασμένη με ραδιενεργό ^{125}I T3 για τις θέσεις των αντισωμάτων.

3.2.5. Για τον υπολογισμό των παρόμοιων με την ινσουλίνη αυξητικών παραγόντων τάξεως-1 (IGF-1).

Χρησιμοποιήθηκε η Sandwich ραδιοανοσοδοκιμασία:

Η διαδικασία περιλαμβάνει την αρχή ανοσοραδιομετρικού προσδιορισμού δύο σημείων (IRMA). Ο προσδιορισμός DSL-2800 ACTIVE IGF-1 IRMA είναι ένας μη ανταγωνιστικός προσδιορισμός στον οποίο η προς μέτρηση αναλυόμενη ουσία βρίσκεται ανάμεσα σε δύο αντισώματα. Το πρώτο αντίσωμα είναι ακινητοποιημένο στα εσωτερικά τοιχώματα των σωληναρίων πολυστυρενίου. Το δεύτερο αντίσωμα είναι το

σημασμένο με ^{125}I για λόγους ανίχνευσης. Η αναλυόμενη ουσία που υπάρχει στα δείγματα δεσμεύεται και από τα δύο αντισώματα και σχηματίζεται έτσι το σύμπλοκο με τη δομή Sandwich. Τα μη δεσμευμένα υλικά απομακρύνονται μέσω μετάγγισης και πλύσης των σωληναρίων.

3.2.6. Τροποποιήσεις που εφαρμόστηκαν

Διάφορες έρευνες στα εμπορικά Multi-Species Leptin RIA KIT που σχεδιάστηκαν για να υπολογίζουν τη συγκέντρωση της ανθρώπινης λεπτίνης έδειξαν ότι υποτιμούσαν τις συγκεντρώσεις της λεπτίνης στο πρόβατο και στα βοοειδή (Ehrhardt *et al.*, 2000, Chilliard *et al.*, 2001) παρόλη την μεγάλη ομοιότητα ανάμεσα στη λεπτίνη του ανθρώπου και των μηρυκαστικών (95%-99%) όσον αφορά την αλληλουχία των αμινοξέων (Dyer *et al.*, 1997a).

Μετά από δοκιμές στο εργαστήριο χρησιμοποιώντας το Multi Species RIA KIT καταλήξαμε στο συμπέρασμα ότι η ειδικευση του αντισώματος της λεπτίνης για το πρόβατο είναι χαμηλή (περίπου 25%) και για την αντιμετώπιση αυτού του προβλήματος εφαρμόστηκαν ορισμένες τροποποιήσεις στη διεργασία των αναλύσεων προκειμένου να βελτιωθεί η ακρίβεια της μεθόδου.

Μετά από δοκιμές επιλέχτηκαν ως οι καταλληλότερες τροποποιήσεις οι παρακάτω:

- 1) Αντί για 100μl ορό και 200 μl buffer χρησιμοποιήθηκαν 150μl ορός και 150 μl buffer.
- 2) Χρησιμοποιήθηκαν πρότυπα διαλύματα (standards) ανασυνδυασμένης λεπτίνης (z Ovine Leptin) προβάτου της εταιρείας Mobitech(Mobitech GmbH).
- 3) Παρατάθηκε η επώαση του δείγματος με το αντίσωμα σε 48 ώρες αντί για 24 ώρες.

3.3 ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ

Η στατιστική επεξεργασία που πραγματοποιήθηκε ήταν η ανάλυση παραλλακτικότητας και για τον υπολογισμό των συσχετίσεων ακολουθήθηκε η μέθοδος Pearson.

Η ανάλυση πραγματοποιήθηκε με τη χρήση του στατιστικού πακέτου Statistical Analysis System (SAS Institute: Cary, NC, USA).

Για τη περιγραφή της ανάλυσης, τα δεδομένα των μετρήσεων ταξινομήθηκαν σε εύρος ενενήντα ημερών πριν και μετά την είσοδο στην ήβη.

Η ημέρα εισόδου στην ήβη καλείται ημέρα μηδέν.

Για την εύρεση συσχετίσεων μεταξύ των μεταβολικών ορμονών ινσουλίνης, λεπτίνης, των παρόμοιων με την ινσουλίνη αυξητικών παραγόντων τάξεως 1, της τριωδοθυρονίνης και του σωματικού βάρους χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος Pearson.

Στους παρακάτω πίνακες βλέπουμε τους στατιστικώς σημαντικούς ($P\text{-Value} < 0,05$) συντελεστές συσχέτισης Correlation Coefficient μεταξύ των μεταβολικών ορμονών που υπολογίστηκαν και του σωματικού βάρους.

Επειδή το $P\text{-Value} < 0,05$ οι παρακάτω περιγραφόμενες συσχετίσεις είναι στατιστικώς σημαντικές.

Οι θετικές τιμές του συντελεστή συσχέτισης υποδεικνύουν την ύπαρξη της θετικής συσχέτισης και οι αρνητικές τιμές αναδεικνύουν την ύπαρξη αρνητικής συσχέτισης.

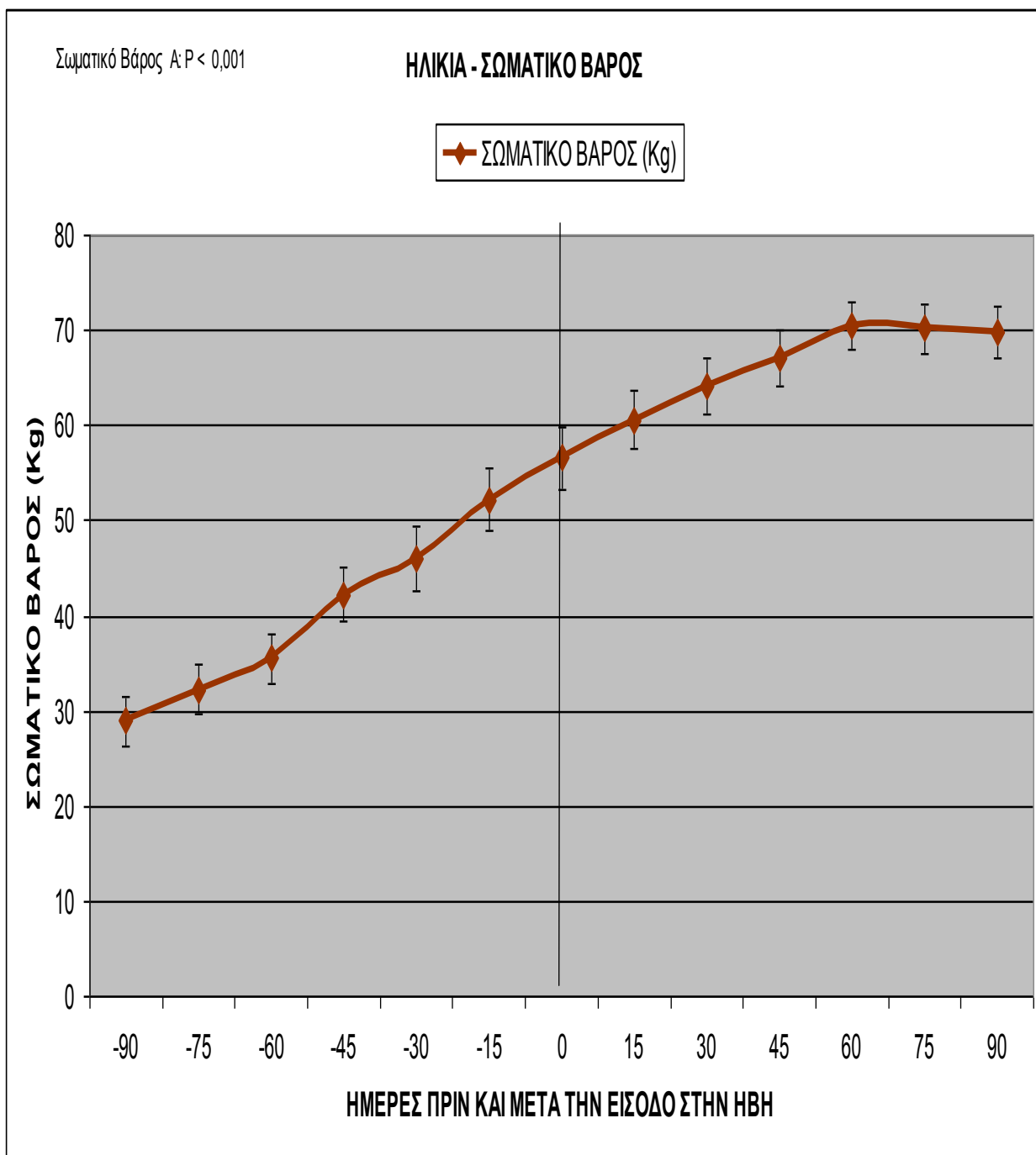
3.4 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΑΝΑΛΥΣΕΩΝ

Στα σχήματα που ακολουθούν παρατηρούμε την αύξηση του σωματικού βάρους συναρτήσει της ηλικίας εκφρασμένης σε μέρες πριν και μετά την ενήβωση.

Ακολουθούν τα σχήματα που αναπαριστούν τη πορεία των συγκεντρώσεων των μεταβολικών ορμονών που μετρήθηκαν καθώς και τη πορεία καθεμίας από αυτές με την αύξηση του σωματικού βάρους.

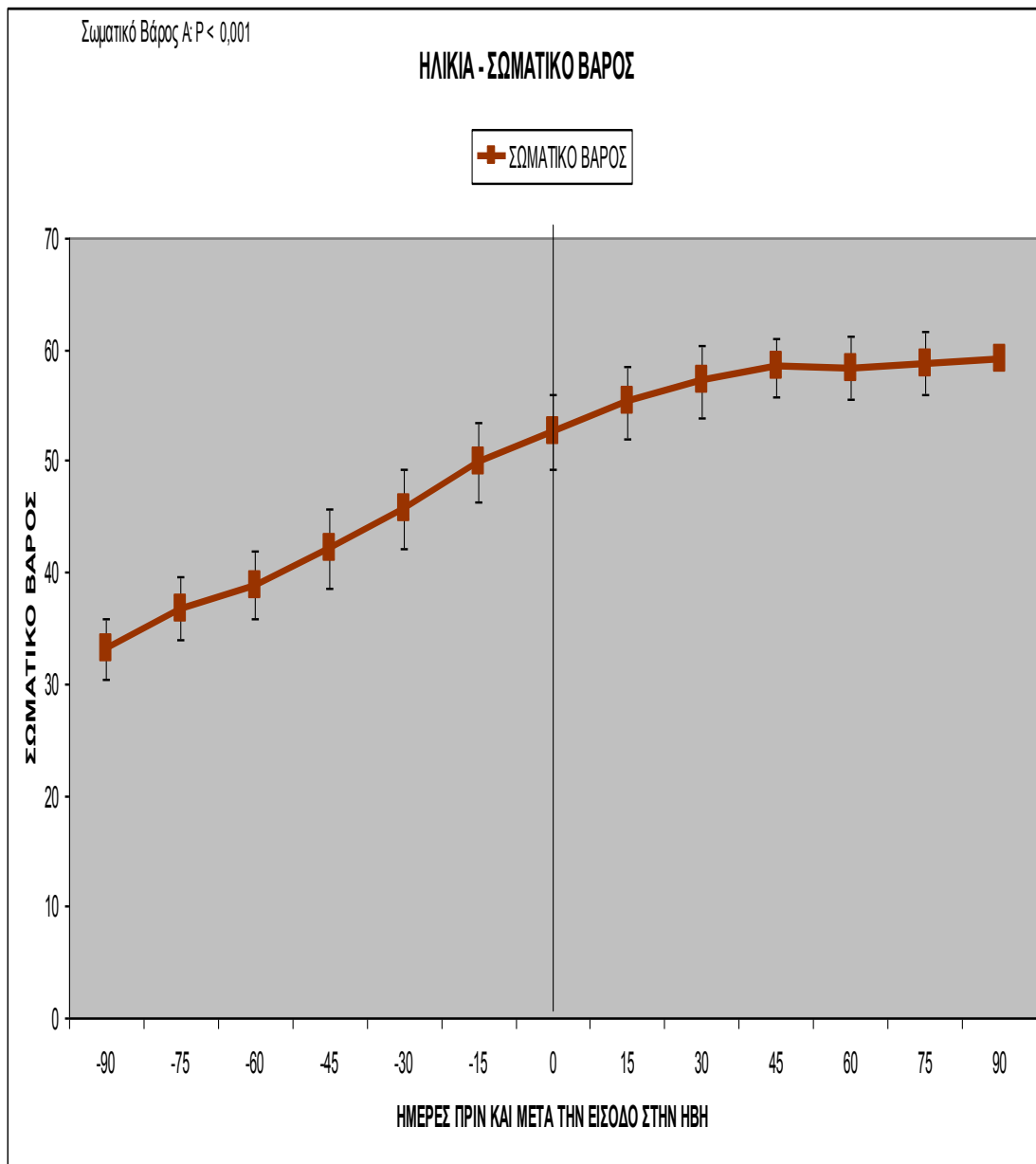
Οι ορμόνες ινσουλίνη, λεπτίνη, τριωδοθυρονίνη είναι εκφρασμένες σε ng/ml και οι ινσουλινόμορφοι παράγοντες τάξεως-1 είναι εκφρασμένοι σε μg/ml προκειμένου να αναπαρισταθεί μαζί με τις υπόλοιπες μεταβολικές ορμόνες.

Η ημέρα ενήβωσης καλείται ημέρα μηδέν.



Διάγραμμα 1. Εξέλιξη του σωματικού βάρους κατά την περί την ήβη περίοδο

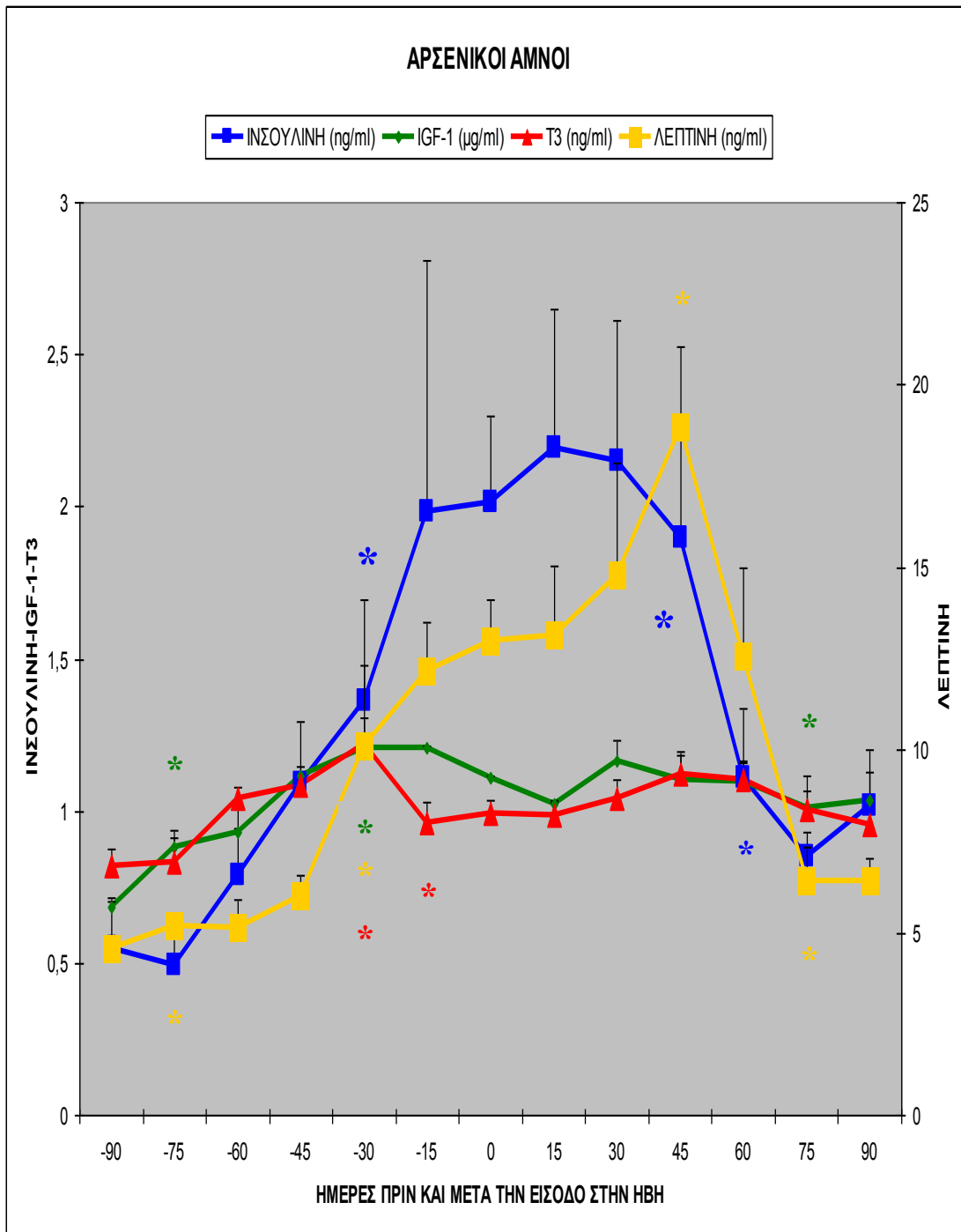
Στο σχήμα 1 παρατηρείται αύξηση του σωματικού βάρους κατά το διάστημα από 90 μέρες πριν την ήβη έως 90 μέρες μετά την ήβη. Από 28,95(±2,6) Kg 90 μέρες πριν την ήβη αυξήθηκε στα 70,42(±2,4) Kg 60 μέρες μετά την ήβη και ύστερα σταθεροποιήθηκε φτάνοντας μέχρι τα 69,85(±2,6Kg) 90 μέρες μετά την ήβη. Το βάρος ενήβωσης των αρσενικών αμνών ήταν 56,57±3,3 Kg.



Διάγραμμα 2. Εξέλιξη του σωματικού βάρους των θηλυκών αμνών κατά την περί την ήβη περίοδο

Στο σχήμα 2 παρατηρείται αύξηση του σωματικού βάρους κατά το διάστημα από 90 μέρες πριν ως και 90 μέρες μετά την είσοδο στην ήβη. Ενενήντα μέρες πριν την ήβη ήταν 28,95(±2,6)Kg μέχρι τα 70,42(±2,4) Kg 60 μέρες μετά την ήβη και ύστερα σταθεροποιήθηκε φτάνοντας τα 69,85(±2,6) Kg 90 μέρες μετά την ήβη.

Το βάρος ενήβωσης των θηλυκών αμνών ήταν 52,58±3,5 Kg.



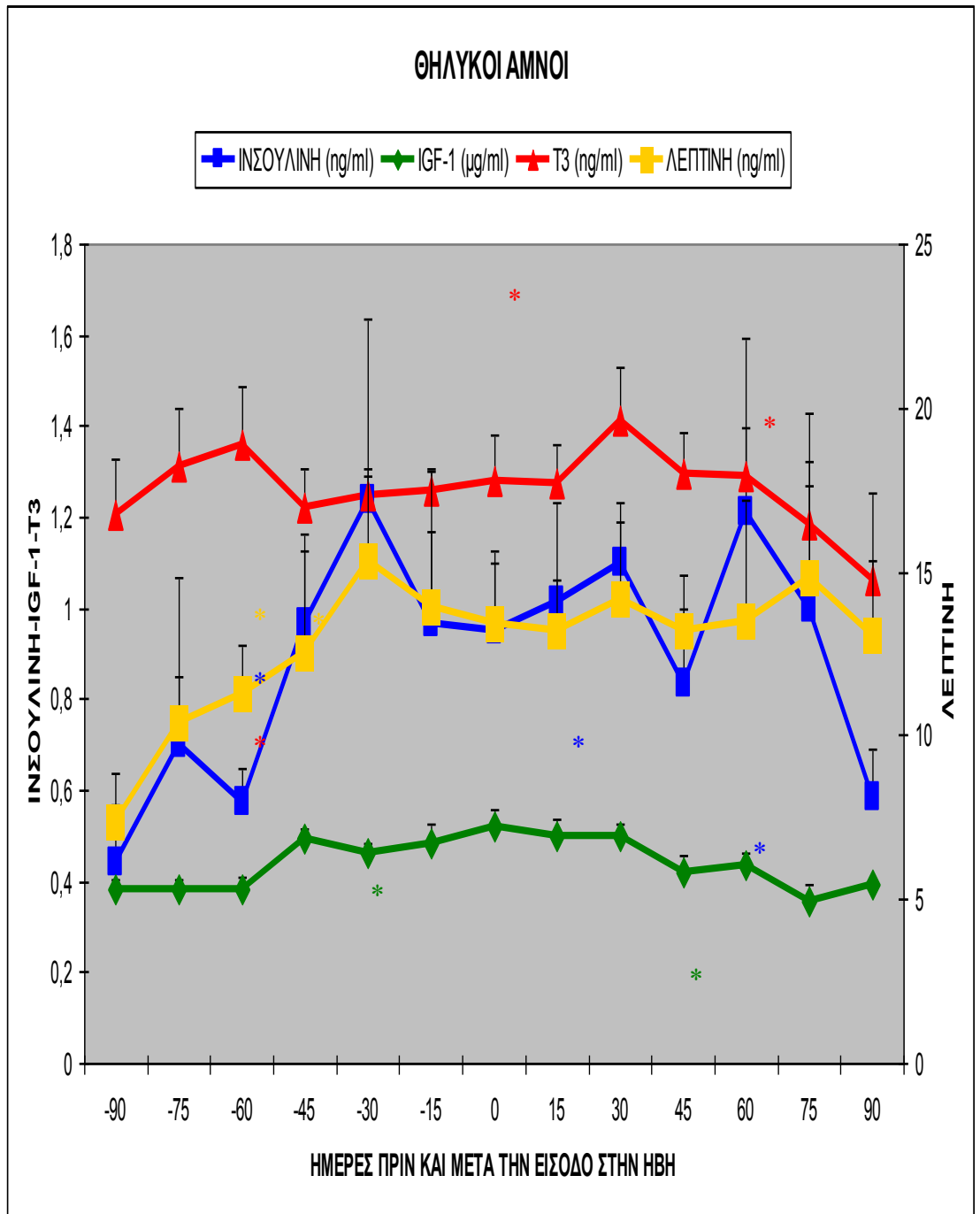
Διάγραμμα 3. Μεταβολές της συγκέντρωσης της Ινσουλίνης, της Λεπτίνης, IGF-1 και της T3 κατά τη χρονική περίοδο 90 μέρες πριν την ήβη έως 90 μέρες μετά την είσοδο στην ήβη

Στο σχήμα 3 παρατηρείται αύξηση της ινσουλίνης από την ενενηκοστή ημέρα πριν την ήβη ($0,49 \pm 0,1$ ng/ml) μέχρι 15 μέρες μετά την ήβη ($2,191 \pm 0,4$ ng/ml) και ύστερα μείωση μέχρι τις 75 μέρες μετά την ήβη ($0,847 \pm 0,08$ ng/ml).

Παρατηρείται αύξηση της λεπτίνης από την ενενηκοστή ημέρα πριν την ήβη ($4,586 \pm 0,3$ ng/ml) μέχρι 45 μέρες μετά την ήβη ($18,814 \pm 2,2$ ng/ml) όπου και παρατηρείται αιχμή και ύστερα μείωση μέχρι τις 75 μέρες μετά την ήβη και ύστερα παραμένει στα προηγούμενα επίπεδα μέχρι την ενενηκοστή μέρα μετά την ήβη ($6,414 \pm 0,6$ ng/ml).

Παρατηρείται αύξηση των IGF-1 από την ενενηκοστή ημέρα πριν την ήβη ($0,683 \pm 0,018$ μg / ml) μέχρι και 15 μέρες πριν την είσοδο στην ήβη ($1,209 \pm 0,055$ μg / ml) και ύστερα μείωση μέχρι τις 15 μέρες μετά την ήβη, η οποία όμως δεν είναι στατιστικώς σημαντική. Ύστερα παρατηρείται αύξηση μέχρι τις 30 μέρες μετά την ήβη ($1,165 \pm 0,07$ μg / ml) και ακολουθούν αυξομειώσεις μέχρι τις 75 μέρες μετά την ήβη ($1,036 \pm 0,089$ μg / ml).

Παρατηρείται αύξηση της T3 από την ενενηκοστή ημέρα πριν την ήβη ($0,819 \pm 0,05$ ng/ml) μέχρι 30 μέρες πριν την ήβη ($1,22 \pm 0,08$ ng/ml) και ακολουθεί σημαντική μείωση 15 μέρες πριν την ήβη ($0,989 \pm 0,04$ ng/ml). Κατά το πέρασμα στην ήβη και μέχρι 90 μέρες μετά την ήβη τα επίπεδα της παραμένουν στα ίδια επίπεδα ($0,956 \pm 0,06$ ng / ml).



Διάγραμμα 4. Μεταβολή της συγκεντρώσεως Ινσουλίνης, Λεπτίνης, ινσουλινόμορφων παραγόντων τάξεως 1 και Τριωδοθυρονίνης κατά τη χρονική περίοδο 90 μέρες πριν έως 90 μέρες μετά την είσοδο των θηλυκών αμνών στην ήβη

Στο σχήμα 4 παρατηρείται αύξηση της ινσουλίνης από την ενενηκοστή ημέρα πριν την ήβη ($0,44 \pm 0,1$ ng/ml) μέχρι 30 μέρες πριν την ήβη ($1,238 \pm 0,3$ ng/ml) και ύστερα μείωση κατά το πέρασμα την ήβη ($0,952 \pm 0,1$ ng/ml). Ακολουθεί σημαντική μείωση στις 45 μέρες μετά την ήβη ($0,833 \pm 0,1$ ng/ml) και αύξηση στις 60 μέρες μετά την ήβη ($1,208 \pm 0,3$ ng/ml) και σημαντική μείωση μέχρι την ενενηκοστή ημέρα μετά την ήβη ($0,582 \pm 0,1$ ng/ml).

Παρατηρείται αύξηση της λεπτίνης από την ενενηκοστή ημέρα πριν την ήβη ($7,367 \pm 1,4$ ng/ml) ως 30 μέρες πριν την ήβη ($15,333 \pm 2,7$ ng/ml) και ύστερα διατήρηση των επιπέδων της ως τις 90 μέρες μετά την ήβη ($13,83 \pm 4,3$ ng/ml).

Παρατηρείται αύξηση των IGF-1 από την ενενηκοστή ($0,38 \pm 0,022$ μg/ml) ως 75 μέρες πριν την ήβη ($0,584 \pm 0,038$ μg/ml) και μείωση 60 μέρες πριν την ήβη ($0,455 \pm 0,026$ μg/ml).. Ύστερα παρατηρείται αύξηση κατά το πέρασμα στην ήβη ($0,523 \pm 0,035$ μg/ml) και μείωση ως τις 90 μέρες μετά την ήβη ($0,392 \pm 0,079$ μg/ml). .

Παρατηρείται σημαντική αύξηση της T3 το διάστημα από 15 μέρες μετά την ήβη ($1,275 \pm 0,08$ ng/ml) ως 30 μέρες μετά την ήβη ($1,412 \pm 0,1$ ng/ml) και μείωση στις 90 μέρες μετά την ήβη ($1,06 \pm 0,04$ ng/ml).

3.4.1. ΣΥΣΧΕΤΙΣΕΙΣ ΟΡΜΟΝΩΝ ΑΡΣΕΝΙΚΩΝ ΑΜΝΩΝ

Συσχετίσεις με τη μέθοδο Pearson ανάμεσα στην ινσουλίνη, τα IGF-1, τη λεπτίνη, τη T3 και το σωματικό βάρος στους αρσενικούς αμνούς πριν την είσοδό τους στην ήβη.

	ΙΝΣΟΥΛΙΝΗ	IGF-1	ΛΕΠΤΙΝΗ	T3	BW
ΙΝΣΟΥΛΙΝΗ		0,4448	0,4597	0,4681	0,4354
IGF-1					
ΛΕΠΤΙΝΗ					
T3					
BW					

	ΙΝΣΟΥΛΙΝΗ	IGF-1	ΛΕΠΤΙΝΗ	T3	BW
ΙΝΣΟΥΛΙΝΗ					
IGF-1					
ΛΕΠΤΙΝΗ		0,5770			0,7633
T3					
BW					

	ΙΝΣΟΥΛΙΝΗ	IGF-1	ΛΕΠΤΙΝΗ	T3	BW
ΙΝΣΟΥΛΙΝΗ					
IGF-1					0,5454
ΛΕΠΤΙΝΗ					
T3		0,5222			
BW					

Συσχετίσεις με τη μέθοδο Pearson ανάμεσα στην ινσουλίνη, τα IGF-1, τη λεπτίνη, τη T3 και το σωματικό βάρος στους αρσενικούς αμνούς μετά την ήβη.

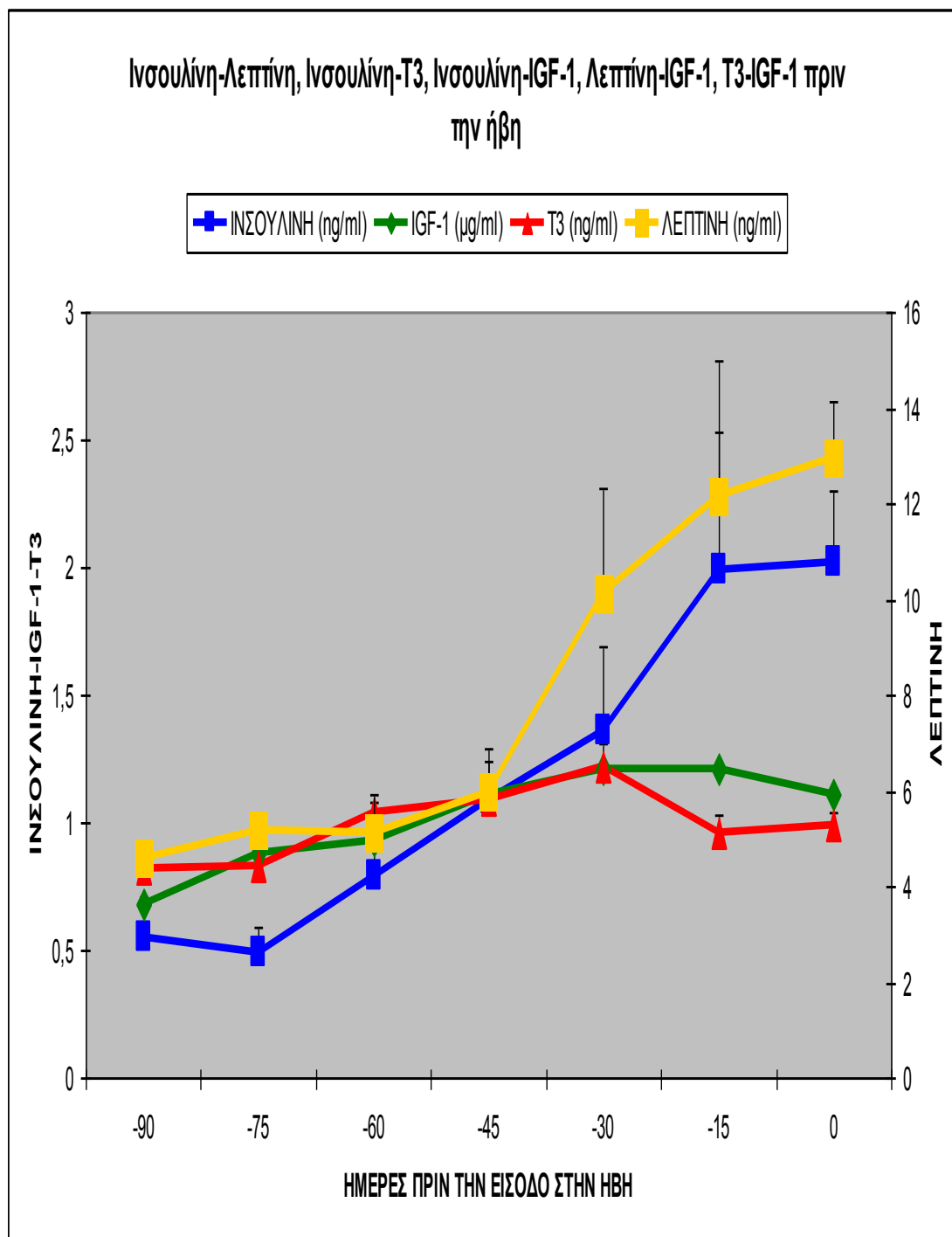
	ΙΝΣΟΥΛΙΝΗ	IGF-1	ΛΕΠΤΙΝΗ	T3	BW
ΙΝΣΟΥΛΙΝΗ			0,4527		
IGF-1					
ΛΕΠΤΙΝΗ		0,2991			
T3					
BW					

Συσχετίσεις ορμονών των αρσενικών αμνών πριν την ήβη:

- A) Η ινσουλίνη συσχετίζεται θετικά με την λεπτίνη, την T3, τους IGF-1 και το Σωματικό Βάρος**
- B) Η λεπτίνη συσχετίζεται θετικά με τους IGF-1 και το Σωματικό Βάρος.**
- Γ) Η T3 συσχετίζεται θετικά με τους IGF-1 (αλλά όχι με ινσουλίνη, λεπτίνη και σωματικό βάρος).**
- Δ) Οι IGF-1 συσχετίζονται θετικά με το Σωματικό Βάρος**

Συσχετίσεις ορμονών των αρσενικών αμνών μετά την ήβη:

- A) Παραμένει η θετική συσχέτιση της ινσουλίνης με τη λεπτίνη.**
- B) Παραμένει η θετική συσχέτιση της λεπτίνης με τους IGF-1.**

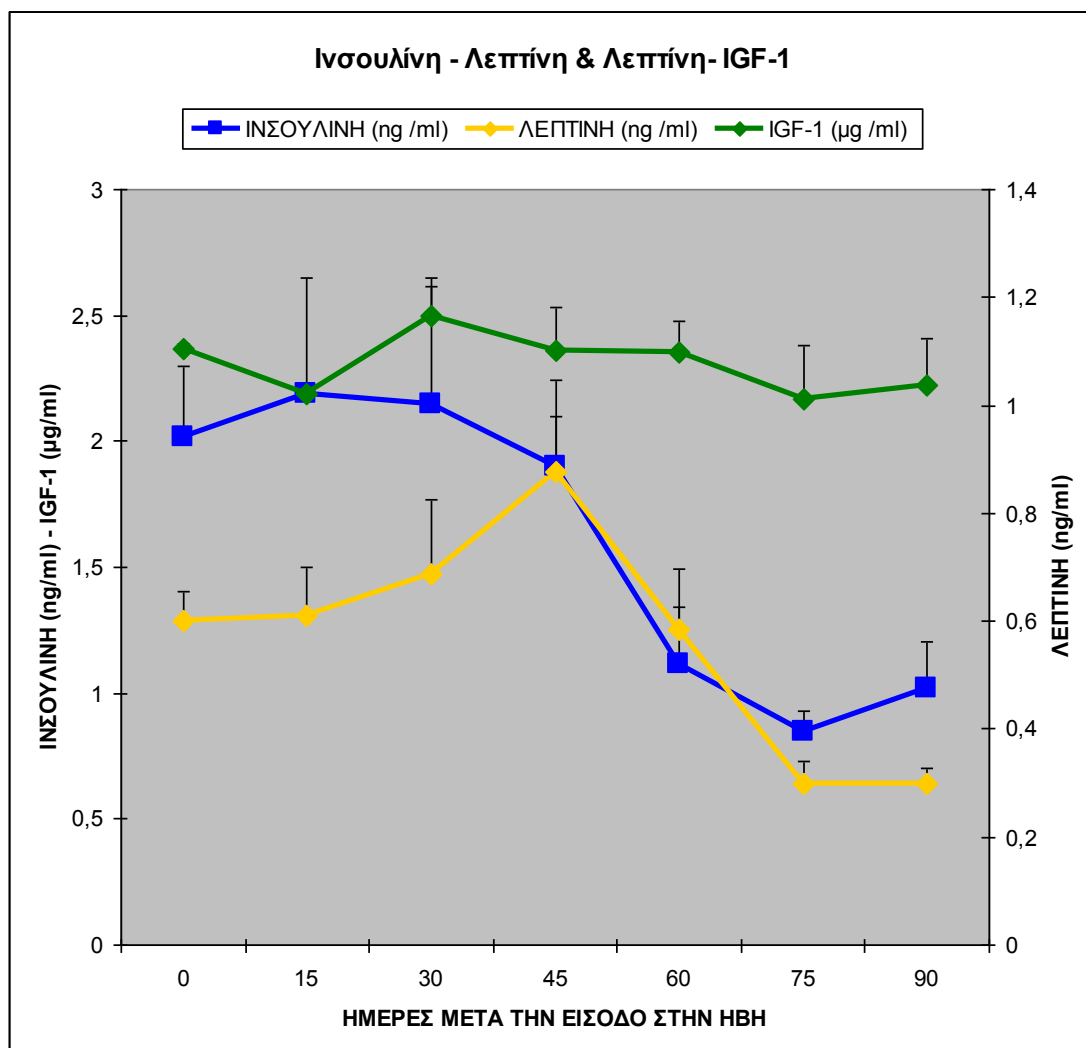


Διάγραμμα 5 . Θετικές συσχετίσεις μεταβολικών ορμονών αρσενικών αμνών πριν την ήβη.

Στο σχήμα 5 βλέπουμε τις συσχετίσεις των μεταβολικών ορμονών που υπολογίστηκαν των αρσενικών αμνών πριν την ήβη, οι οποίες ήταν θετικές και στατιστικώς σημαντικές.

Συγκεκριμένα παρουσιάστηκε θετική συσχέτιση ανάμεσα σε:

- 1) Ινσουλίνη και Λεπτίνη με συντελεστή συσχέτισης 0,4597 και P-Value = 0,0009.
- 2) Ινσουλίνη και IGF-1 με συντελεστή συσχέτισης 0,4448 και P-Value= 0,0014.
- 3) Ινσουλίνη και T3 με συντελεστή συσχέτισης 0,4681 και P-Value=0,0007.
- 4) Λεπτίνη και IGF-1 με συντελεστή συσχέτισης 0,5770 και P-Value=0.
- 5) T3 και IGF-1 με συντελεστή συσχέτισης 0,5222 και P-Value= 0,0001.



Διάγραμμα 6. Θετικές συσχετίσεις μεταβολικών ορμονών αρσενικών αμνών μετά την ήβη.

Στο σχήμα 6 βλέπουμε τις συσχετίσεις των μεταβολικών ορμονών που υπολογίστηκαν των αρσενικών αμνών μετά την ήβη, οι οποίες είναι θετικές και στατιστικώς σημαντικές.

Συγκεκριμένα παρουσιάστηκε θετική συσχέτιση ανάμεσα σε:

- 1) Ινσουλίνη και Λεπτίνη με συντελεστή συσχέτισης 0,4527 και P-Value=0,0011
- 2) Λεπτίνη και IGF-1 με συντελεστή συσχέτισης 0,2991 και P-Value=0,0368

3.4.2. ΣΥΣΧΕΤΙΣΕΙΣ ΘΗΛΥΚΩΝ ΑΜΝΩΝ

Συσχετίσεις με τη μέθοδο Pearson ανάμεσα στην ινσουλίνη, τα IGF-1, τη λεπτίνη, τη T3 και το σωματικό βάρος στους θηλυκούς αμνούς πριν την ήβη.

	ΙΝΣΟΥΛΙΝΗ	IGF-1	ΛΕΠΤΙΝΗ	T3	BW
ΙΝΣΟΥΛΙΝΗ			0,4667		0,5746
IGF-1					
ΛΕΠΤΙΝΗ					0,6176
T3					0,4037
BW					

Συσχετίσεις με τη μέθοδο Pearson ανάμεσα στην ινσουλίνη, τα IGF-1, τη λεπτίνη, τη T3 και το σωματικό βάρος στους θηλυκούς αμνούς μετά την ήβη.

	ΙΝΣΟΥΛΙΝΗ	IGF-1	ΛΕΠΤΙΝΗ	T3	BW
ΙΝΣΟΥΛΙΝΗ					
IGF-1					-0,3600
ΛΕΠΤΙΝΗ					
T3					
BW					

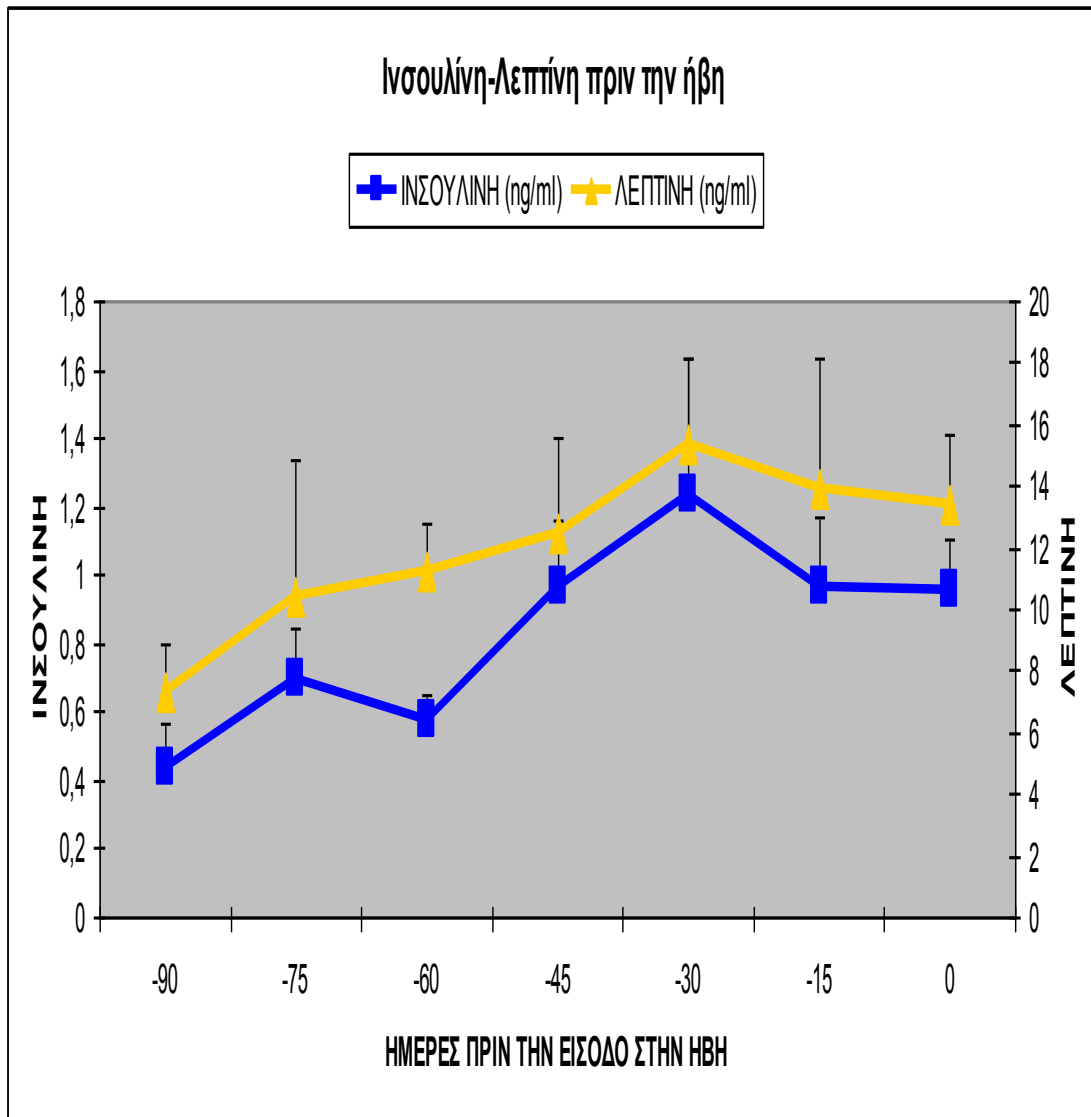
Όλες οι περιγραφόμενες συσχετίσεις είναι στατιστικώς σημαντικές ($P < 0,05$).

Συσχετίσεις ορμονών θηλυκών αμνών πριν την ήβη:

- A. Η ινσουλίνη συσχετίζεται θετικά με τη λεπτίνη και το σωματικό βάρος.
- B. Η λεπτίνη και η T3 συσχετίζονται θετικά με το σωματικό βάρος.

Συσχετίσεις ορμονών θηλυκών αμνών μετά την ήβη:

- A. Τα IGF-1 συσχετίζονται αρνητικά με το σωματικό βάρος.

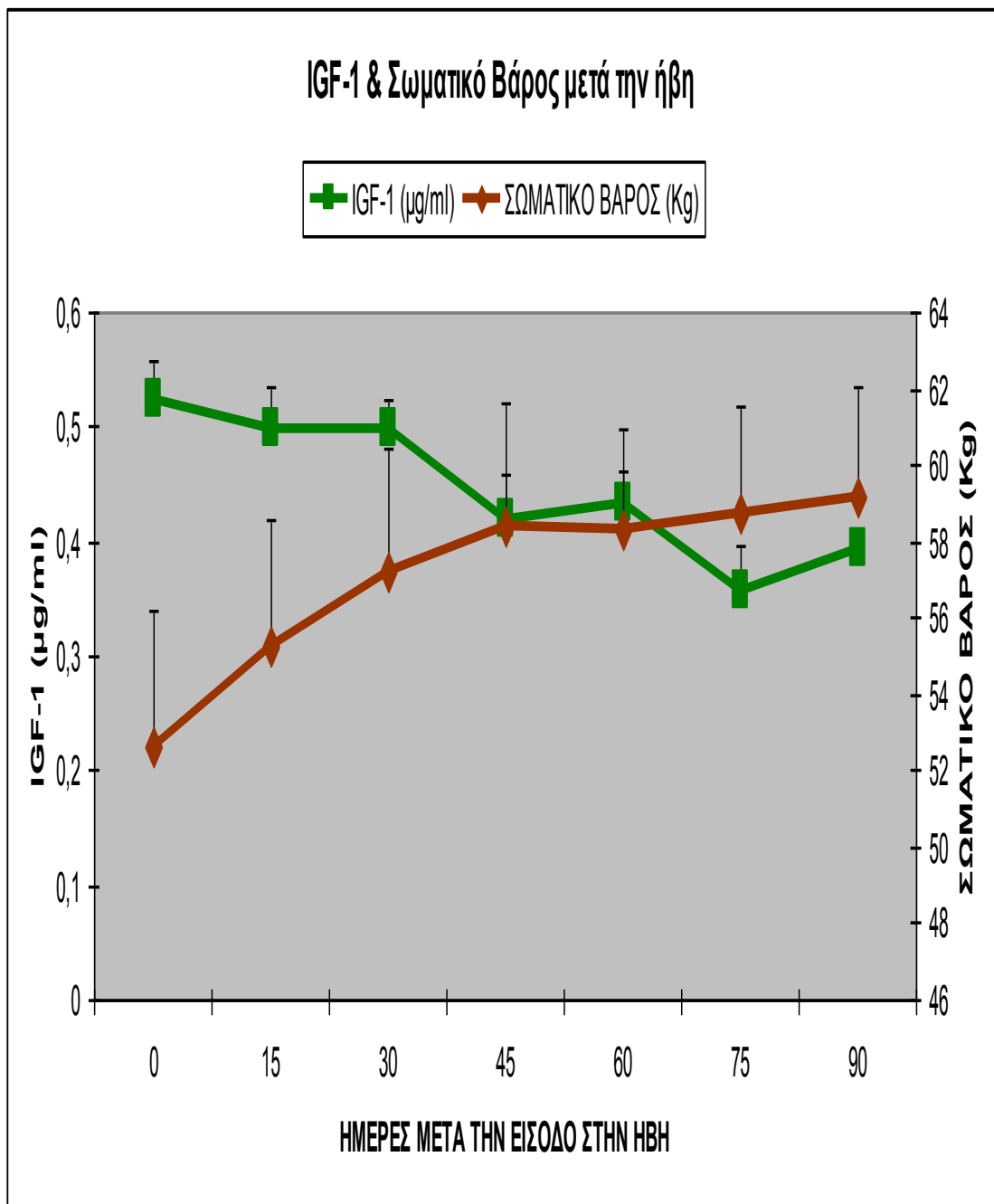


Διάγραμμα 7. Θετικές συσχετίσεις μεταβολικών ορμονών θηλυκών αμνών πριν την ήβη.

Στο σχήμα 7 βλέπουμε τις συσχετίσεις των μεταβολικών ορμονών των θηλυκών αμνών πριν την ήβη, οι οποίες είναι θετικές και στατιστικώς σημαντικές.

Συγκεκριμένα παρουσιάστηκε θετική συσχέτιση ανάμεσα στην

1) Ινσουλίνη και στη Λεπτίνη με συντελεστή συσχέτισης 0,4667 και P-Value= 0,0018.



Διάγραμμα 8 . Αρνητική συσχέτιση μεταβολικών ορμονών θηλωκών αμνών μετά την ήβη.

Στο σχήμα 8 βλέπουμε τη συσχέτιση των IGF-1 με το σωματικό βάρος των θηλυκών αμνών μετά την ήβη, η οποία είναι αρνητική και στατιστικώς σημαντική. Ο συντελεστής συσχέτισης είναι (-) 0,3600 και το P-Value= 0,0192.

4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ - ΣΧΟΛΙΑΣΜΟΣ

4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ - ΣΧΟΛΙΑΣΜΟΣ

Στην εργασία αυτή διερευνήθηκαν οι μεταβολές των επιπέδων ορισμένων μεταβολικών ορμονών από την ηλικία των 105 ημερών ως την ηλικία των 10 μηνών και η συσχέτισή τους με την έναρξη της ήβης, αφού είναι γνωστό ότι μια σειρά από μεταβολικά σήματα και ορμόνες παίζουν καθοριστικό ρόλο στη διαδικασία της ενήβωσης, (Cameron *et al.* 1985, Barb *et al.*, 1997). Επίσης προκειμένου να εισέλθει ο οργανισμός στο ενεργοβόρο έργο της αναπαραγωγής χρειάζεται ένα ελάχιστο ποσοστό σωματικού λίπους (Frisch, 1984).

Στην παρούσα εργασία παρατηρήθηκε αύξηση των επιπέδων της ινσουλίνης, λεπτίνης και T3 και μικρή μείωση των επιπέδων της IGF-1 στους αρσενικούς αμνούς κατά την είσοδο στην ήβη. Στους θηλυκούς αμνούς οι συγκεντρώσεις όλων των παραπάνω ορμονών αυξήθηκαν κατά τη μετάβαση στην ήβη. Τα αποτελέσματα αυτά βρίσκονται σε συμφωνία με προηγούμενες μελέτες σε αναπτυσσόμενους ταύρους, στους οποίους οι κυκλοφορούσες συγκεντρώσεις ινσουλίνης, λεπτίνης και IGF-1 αυξήθηκαν κατά την είσοδό τους στην ήβη.

Στην παρούσα μελέτη οι συγκεντρώσεις της λεπτίνης παρουσίασαν αύξηση κατά την περιηβική περίοδο, τόσο στους αρσενικούς, όσο και στους θηλυκούς αμνούς. Στους αρσενικούς αμνούς σημείωσαν στατιστικώς σημαντική αύξηση στις 75 και 30 μέρες πριν την ήβη καθώς και στις 45 μέρες μετά την ήβη και ύστερα παρουσίασαν στατιστικώς σημαντική μείωση στις 75 μέρες μετά την ήβη ενώ στους θηλυκούς αμνούς παρουσίασαν στατιστικώς σημαντική αύξηση στις 30 μέρες πριν την ήβη. Αύξηση των συγκεντρώσεων της λεπτίνης στο πλάσμα του αίματος στη διάρκεια της ήβης έχει αναφερθεί ότι συμβαίνει στο ποντίκι (Chehab *et al.*, 1997), στις μοσχίδες (Garcia *et al.*, 2002), στους ταύρους (Brito *et al.*, 2007) και στο χοίρο (Qian *et al.*, 1999). Η παρατηρηθείσα αύξηση της λεπτίνης στα αρσενικά 45 μέρες μετά την είσοδό τους στην ήβη, η οποία ακολουθήθηκε από ελάττωση στα προ της ήβης επίπεδα ίσως μπορεί να αποδοθεί στη διάρκεια των 49 ημερών που διαρκεί η σπερματογένεση στο κριό για τη δημιουργία των σπερματοζωαρίων με διάρκεια κάθε κύκλου σπερματογένεσης 10,4 ημέρες. (McDonald's Veterinary Endocrinology and Reproduction). Μελέτη των Mantzoros *et al.*, στον άνθρωπο το 1997, έδειξε ότι η

αύξηση των επιπέδων τεστοστερόνης κατά την είσοδο στην ήβη προάγεται από μία αιχμή των επιπέδων της λεπτίνης. Μετά την είσοδο στην ήβη τα επίπεδα της μειώνονται στα επίπεδα που υπήρχαν πριν την ήβη (Mantzoros *et al.*, 1997).

Επειδή η λεπτίνη δρα ανασταλτικά στην παραγωγή τεστοστερόνης στους όρχεις ίσως και για αυτό το λόγο μειώθηκαν άμεσα τα επίπεδά της στη κυκλοφορία του αίματος με την ολοκλήρωση της σπερματογένεσης και κατόπιν της μέγιστης παραγωγής τεστοστερόνης λόγω της προηγηθείσας αιχμής της λεπτίνης.

Στους θηλυκούς αμνούς μετά την ήβη παρατηρήθηκε διατήρηση των επιπέδων της λεπτίνης παρόλη την εκπλήρωση της προϋπόθεσης δημιουργίας του κρίσιμου σωματικού βάρους για την είσοδο στην ήβη. Η διατήρηση των επιπέδων της λεπτίνης μπορεί να οφείλεται στη παραγωγή των οιστρογόνων ορμονών και να εξυπηρετεί τη διαρκή ενημέρωση του υποθαλάμου για τα ενεργειακά αποθέματα του οργανισμού προκειμένου να υποστηριχτεί μια ενδεχόμενη κυοφορία. Ακόμη, η διατήρηση των υψηλών συγκεντρώσεων λεπτίνης στους θηλυκούς αμνούς μετά την ήβη μπορεί να οφείλεται στη παραγωγή οιστρογόνων όπως συμβαίνει στη χοίρο ή στην αυξανόμενη έκφραση του υποδοχέα της λεπτίνης όπως στις μοσχίδες. (Qian *et al.*, 1999, Garcia *et al.*, 2002, Block *et al.*, 2003, Mercer *et al.*, 1996, Diano *et al.*, 1998, Mitra *et al.*, 2003). Τα οιστρογόνα επίσης αυξάνουν τη παραγωγή λεπτίνης σε ωθηκεκτομημένους επίμυες (Shimizu *et al.*, Brann *et al.*, 1999) καθώς και σε απομονωμένο λιπώδη ιστό (Casabiell *et al.*, 1998, Kristensen *et al.*, 1999, Machinal *et al.*, 1999). Τα οιστρογόνα επίσης ρυθμίζουν τις δράσεις της λεπτίνης μεταβάλλοντας την έκφραση του υποδοχέα της Ob-Rb (Pelleymounter *et al.*, 1999, Meli *et al.*, 2004, Rocha *et al.*, 2004). Τα οιστρογόνα ακόμη αυξάνουν την έκφραση λεπτίνης στο λιπώδη ιστό του ανθρώπου (Casabiell *et al.*, 1998), του χοίρου (Qian *et al.*, 1999) και ωθηκεκτομημένων επιμύων (Shimizu *et al.*, 1997, Brann *et al.*, 1999).

Στα βοοειδή, μεγαλύτερα επίπεδα λεπτίνης στο πλάσμα του αίματος καθώς πλησιάζει η μοσχίδα στην ήβη υποδηλώνουν ότι ενδεχομένως τα οιστρογόνα να ρυθμίζουν τη σύνθεση της λεπτίνης (Garcia *et al.*, 2002, Block *et al.*, 2003).

Στις μοσχίδες τα οιστρογόνα προάγουν τα IGF-1 και την mRNA έκφραση προγεστερόνης στο λιπώδη ιστό του μαστικού αδένου αλλά όχι σε ολόκληρο το μήκος του λιπώδους ιστού. (Meyer *et al.*, 2006). Χορήγηση οιστρογόνων δεν προκαλεί

σημαντική μεταβολή στο mRNA λεπτίνης στο λιπώδη ιστό, ούτε στο λιπώδη ιστό του μαστικού αδένου. Ίσως, τα οιστρογόνα να αυξάνουν τη σύνθεση της λεπτίνης στα βοοειδή ή και στο πρόβατο, μόνο μετά την ήβη, όπως έχει παρατηρηθεί στη σύα. (Qian *et al.*, 1999).

Στα τρωκτικά η λεπτίνη δρα στον υποθάλαμο και σε άλλες περιοχές του κεντρικού νευρικού συστήματος προκειμένου να ρυθμίσει το σωματικό βάρος, αλλά η λεπτίνη έχει λίγους απευθείας ιστούς – στόχους στη περιφέρεια. (Ahima and Flier, 2000, Myers, 2004).

Οι ενδείξεις για τις κεντρικές δράσεις της λεπτίνης στα μηρυκαστικά είναι αντικρουόμενες αλλά φαίνεται ότι η λεπτίνη δρα και σε περιφερικούς ιστούς. (Clarke *et al.*, 2001a, Williams *et al.*, 2002, Boisclair *et al.*, 2006, Silva *et al.*, 2002, Chelikani *et al.*, 2003, Lulu Strat *et al.*, 2005). Τα οιστρογόνα ρυθμίζουν την αφθονία υποδοχέων της λεπτίνης σε μερικούς ιστούς που ανταποκρίνονται στα οιστρογόνα αλλά δεν έχουν επίδραση στη παραγωγή της λεπτίνης. Η πλειοψηφία των υποδοχέων της λεπτίνης είναι ο Ob-Rb στον υποθάλαμο και ο Ob-Ra στη περιφέρεια. Αυτή η κατανομή των υποδοχέων συμφωνεί με την επικρατούσα άποψη που υποστηρίζει ότι η πλειονότητα των δράσεων της λεπτίνης έχει αφετηρία τον υποθάλαμο.

Έτσι, η μεγαλύτερη έκκριση οιστρογόνων δεν προκαλεί μεγαλύτερη αύξηση της λεπτίνης του πλάσματος σε μοσχίδες περί την ήβη, αλλά μπορεί να ρυθμίζει την έκφραση του υποδοχέα της λεπτίνης σε μερικούς ιστούς που ανταποκρίνονται στα οιστρογόνα

(Thorn *et al.*, 2007). Υπάρχει επίσης η πιθανότητα τα οιστρογόνα να ρυθμίζουν την ευαισθησία στη λεπτίνη ή την έκφραση του υποδοχέα της λεπτίνης Ob-Rb. Προβατίνες και θηλυκοί επίμυες έχουν μεγαλύτερες ανορεκτικές ανταποκρίσεις στη κεντρική χορήγηση λεπτίνης από ότι τα αρσενικά. (Clarke *et al.*, 2001b; Clegg *et al.*, 2003).

Επειδή ο υποδοχέας των οιστρογόνων βρίσκεται στην ίδια περιοχή του υποθαλάμου με τον υποδοχέα της λεπτίνης Ob-Rb είναι πιθανή και η απευθείας δράση των οιστρογόνων στον δεύτερο (Rb) υποδοχέα της λεπτίνης (Mercer *et al.*, 1996, Diano *et al.*, 1998, Mitra *et al.*, 2003). Εικάζεται ότι τα οιστρογόνα ρυθμίζουν την έκφραση του Ob-Rb σε ιστούς – στόχους αυτών. Τα οιστρογόνα όμως δεν είχαν κάποιο αποτέλεσμα στην έκφραση του Ob-Rb στον υποθάλαμο αλλά μείωσαν την έκφρασή του στη μήτρα.

Δράσεις των οιστρογόνων δεν έχουν ανιχνευτεί στο ήπαρ, στους μύες ή στον λιπώδη ιστό.

Στις προβατίνες οι συγκεντρώσεις της κυκλοφορούσης λεπτίνης έχουν την τάση να μειώνονται κατά τη διάρκεια του τέλους της ωχρινικής φάσης και πρώιμης ωοθυλακικής φάσης του οιστρικού κύκλου και αυτό σχετίζεται με μία μείωση στην έκφραση του γονιδίου της λεπτίνης στα κύτταρα του λιπώδους ιστού. (Garcia *et al.*, 2002).

Επομένως, όπως οι κυκλοφορούσες συγκεντρώσεις λεπτίνης αυξάνονται κατά τη διάρκεια της ήβης, επιτυγχάνεται ουδός ο οποίος επιτρέπει την ενεργοποίηση του αναπαραγωγικού άξονα και σε αυτό το σύστημα η λεπτίνη ασκεί επιτρεπτικό ρόλο. Στη βιβλιογραφία αναφέρονται μελέτες σύμφωνα με τις οποίες η αναλογία της γλυκόζης είναι μεγαλύτερη σε αμνούς μετά την είσοδό τους στην ήβη συγκριτικά με την περίοδο πριν την ήβη (Miller *et al.*, 1995, Bucholtz *et al.*, 1998). Η αύξηση της συγκέντρωσης της ινσουλίνης πριν την ήβη και η μείωση της συγκέντρωσής της μετά την ήβη συμφωνεί με την αντιστρόφως ανάλογη συσχέτιση με τη γλυκόζη, η οποία είναι σε χαμηλότερα επίπεδα πριν την ήβη και σε αυξημένα επίπεδα μετά την είσοδο στην ήβη.

Σε αντίστοιχη εργασία σε αίγες βρέθηκε ότι η συγκέντρωση της ινσουλίνης στο πλάσμα του αίματος ήταν χαμηλή πριν την ήβη και αυξήθηκε σταδιακά μετά την ήβη (Sakurai *et al.*, 2004).

Στο εργαστήριο Γενικής και Ειδικής Ζωοτεχνίας του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών πραγματοποιήθηκε διδακτορική διατριβή με θέμα την ηλικία της ήβης και χαρακτηριστικά της πρώτης οιστρικής περιόδου αμνάδων των φυλών Χίου και Καραγκούνικης σε σχέση με το επίπεδο διατροφής. Στη μελέτη αυτή χρησιμοποιήθηκαν

Στα πλαίσια διδακτορικής διατριβής που διεκπαιρεύθηκε στο εργαστήριο Γενικής και Ειδικής Ζωοτεχνίας του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών στην οποία μελετήθηκε η ηλικία της ήβης αμνάδων των φυλών Χίου και Καραγκούνικης σε σχέση με το επίπεδο διατροφής, διαπίστωθηκε ότι υπερδιπλασιασμός των τιμών της ινσουλίνης σε όλα τα ζώα από την ηλικία των τεσσάρων ή πέντε μηνών μέχρι της εισόδου στην ήβη.

(Ιωσήφ Μπιζέλη Ηλικία της ήβης και χαρακτηριστικά της πρώτης οιστρικής περιόδου αμνάδων των φυλών Χίου και Καραγκούνικης σε σχέση με το επίπεδο διατροφής Διδακτορική Διατριβή 1989).

Αύξηση της συγκέντρωσης της ινσουλίνης των αρνιών με την ηλικία έχει διαπιστωθεί και από τους Godden Weekes(1981) και Johnson κ.α. (1985).

Η αύξηση του επιπέδου Ινσουλίνης με τη πάροδο του χρόνου ήταν πολύ πιο ισχυρή στις αμνάδες με υψηλό επίπεδο διατροφής. Γενικά λοιπόν, πρόβατα που σιτίζονται με υψηλό επίπεδο ενέργειας παρουσιάζουν μεγαλύτερες τιμές Ινσουλίνης

(Bizelis, Deligeorgis and Rogdakis 1990, Forbes *et al.*, 1979, Waghorn *et al.*, 1987)

Οι κυκλοφορούσες συγκεντρώσεις των IGF-1 επηρεάζονται από έναν αριθμό γενετικών και μη γενετικών παραγόντων που σχετίζονται με το δυναμικό ανάπτυξης. Σε αυτούς περιλαμβάνεται το φύλο (Merimee *et al.*, (1987), Blair *et al.*,(1987), Siddiqui *et al.*(1990), Ringberg Lund-Larsen *et al.*,(1975), Luna *et al.*, (1983), Copeland *et al.*, (1985)), το μέγεθος της τοκετομάδας (Blair *et al.*, 1987), η διατροφή (Breier *et al.*, 1986, 1988a), ο απογαλακτισμός (Breier *et al.*, 1988b) και το ενδογενές παρασιτικό φορτίο του οργανισμού (Elsasser *et al.*, 1988). Το γεγονός ότι η ινσουλίνη αναγνωρίζεται και από τους υποδοχείς IGF-1 και οι IGF-1 αναγνωρίζονται από τους υποδοχείς της ινσουλίνης μας οδηγεί σε τρεις πιθανότητες: 1) Η ινσουλίνη ίσως να συνδέεται με τους υποδοχείς IGF-1 και να προκαλεί παρόμοιες ανταποκρίσεις με αυτούς ή

2) οι IGF-1 μπορεί να συνδέονται με τους δικούς τους υποδοχείς ή

3) οι IGF-1 να δρουν στους υποδοχείς της ινσουλίνης.

Στις μοσχίδες έχει παρατηρηθεί αύξηση των συγκεντρώσεων IGF-1 το διάστημα 9 εβδομάδων πριν την ήβη μέχρι την ήβη (Jones *et al.*, 1991, Garcia *et al.*, 2002)

Οι Roberts *et al.*, έχουν επισημάνει ότι οι συγκεντρώσεις των IGF-1 αυξάνονται σημαντικά στους θηλυκούς αμνούς όταν εισέρχονται στην ήβη(Roberts *et al.*, 1990).

Σε αυτό το συμπέρασμα έχουν καταλήξει και άλλοι ερευνητές, με εργασίες στο ποντίκι (Siddiqui *et al.*, 1990), στους πιθήκους (Copeland *et al.*, 1985), αλλά και στον άνθρωπο (Merimee *et al.*, (1987), Luna *et al.*, (1983), Hall *et al.*, (1984). Παρόμοια αποτελέσματα έχουν αναφερθεί και για τις αίγες, φυλής Shiba, στις οποίες οι συγκεντρώσεις των IGF-1 στο πλάσμα του αίματος αυξάνονται κατά την είσοδο στην

ήβη κατά το διάστημα 4 εβδομάδων πριν έως 1 εβδομάδα μετά την είσοδο στην ήβη, (Sakurai *et al* 2004).

Η αύξηση των συγκεντρώσεων των IGF-1 κατά τη διάρκεια της πρώτης αυξήσεως των γοναδοτροπινών υποδηλώνει τη πιθανότητα η ορμόνη αυτή να διαδραματίζει κάποιο ρόλο στη ρύθμιση της αύξησης των γοναδοτροπινών (Brito *et al.*, 2007).

Τα επίπεδα των IGF-1 αυξάνονται κατά την είσοδο στην ήβη, παράλληλα με μία αύξηση της συγκέντρωσης της οιστραδιόλης. (Hiney J.K. *et al.*, 1996). Είναι γνωστό ότι η οιστραδιόλη και ο IGF-1, όπως και οι υποδοχείς τους IGF-1R είναι απαραίτητοι για τη διαφοροποίηση των νευρώνων του υποθαλάμου και της γλοίας. Επίσης, οι μεταβολές που προκαλούνται από τα οιστρογόνα στην αστρογλοία και στις συνάψεις στον υποθάλαμο κατά τον πρόοιστρο και τον οίστρο εξαρτώνται από τους υποδοχείς της οιστραδιόλης και των IGF-1. (Duenas M *et al.*, 1996, Fernandez – Galaz M.C. *et al.*, 1997, 1999). Διάφορες μελέτες έχουν αναδείξει τη σχέση IGF-1 και LH με τα οιστρογόνα σε ζώα που έχουν διατραφεί κατά βούληση ή έχουν υποσιτιστεί. Στα ανώριμα αναπαραγωγικά ζώα, κεντρική χορήγηση IGF-1 διεγείρει την απελευθέρωση της LH, αποτέλεσμα που παρατηρείται κατά την περί την ήβη περίοδο. Παρόλα αυτά, η απελευθέρωση της LH που προκαλείται από τους IGF-1 ποικίλλει ανάμεσα στα διάφορα είδη ζώων, και εξαρτάται από το εκάστοτε στάδιο της ανάπτυξης, υποδηλώνοντας ότι διαφορετικές ανταποκρίσεις στους IGF-1 οφείλονται στα διάφορα επίπεδα των στεροειδών των γονάδων στη κυκλοφορία του αίματος. (Hiney JK *et al.*, 1996, Quesada A *et al.*, 2002).

Έχει παρατηρηθεί ότι σε ωθηκεκτομημένα πρωτεύοντα περί την ήβη δεν αυξάνεται η συγκέντρωση IGF-1 στη κυκλοφορία του αίματος, η οποία παρατηρείται στην ήβη, δείχνοντας ότι η περί την ήβη αύξηση των IGF-1 δρα κεντρικά προκειμένου να προάγει την απελευθέρωση LH και είναι ένα εξαρτώμενο από τις γονάδες γεγονός.

Αντίθετα σε ωθηκεκτομημένους επίμυες έχει διαπιστωθεί ότι αυξάνονται τα επίπεδα των IGF-1 στην περί την ήβη περίοδο. (Hiney JK *et al.*, 1996).

Δεδομένα σε ενήλικους ωθηκεκτομημένους επίμυες έδειξαν ότι κεντρική χορήγηση JB-1 (ανταγωνιστής του IGF-1R) δεν επηρέασε τα βασικά επίπεδα LH, αλλά ανέστειλε την αιχμή της LH που προκαλείται από την οιστραδιόλη και τη προγεστερόνη.

Η παρατήρηση αυτή υποδηλώνει ότι η θετική παλίνδρομη ρύθμιση της οιστραδιόλης στην απελευθέρωση της LH απαιτεί τη δραστηριότητα του υποδοχέα των IGF-1 (Hiney JK *et al.*, 1996). Στη μέση περιοχή, τα επίπεδα mRNA για τον IGF-1R είναι υψηλότερα κατά τη διάρκεια του απογεύματος του πρώτου πρόοιστρου από ότι κατά την προηβική περίοδο.

Αυτό ίσως αναδεικνύει ότι η οιστραδιόλη δρα στον υποθάλαμο για να προωθήσει τη σύνθεση IGF-1R όταν τα επίπεδα των στεροειδών αυξάνονται. (Quesada A *et al.*, 2002). Επομένως, η οιστραδιόλη διευκολύνει τη σημαντική δράση των IGF-1 να διεγείρουν την απελευθέρωση LHRH/LH κατά την ανάπτυξη της ήβης και μακροπρόθεσμα να υποστηρίξει το γεγονός ότι οι ενδογενείς IGF-1 μπορούν να διεγείρουν την απελευθέρωση LH παρουσία υψηλών επιπέδων οιστραδιόλης. (Hiney JK *et al.*, 2004). Οι ορμόνες των γονάδων ενεργοποιούν τον επανασηματισμό των tanycytes και των νευρώνων της GnRH κατά την ήβη. Tanycytes που εκφράζουν υποδοχείς οιστραδιόλης (Gudino – Cabera & Nieto- Sampedro 1999) ίσως είναι ένας από τους άμεσους κυτταρικούς στόχους των ορμονών των γονάδων ή και άλλων ορμονών για την έναρξη αυτών των πλαστικών μεταβολών. Εκτός από υποδοχείς για την οιστραδιόλη τα tanycytes εκφράζουν υποδοχείς και για τους παρόμοιους με την ινσουλίνη αυξητικούς παράγοντες -I (IGF-I) που ίσως να συμμετέχουν κατά την είσοδο στην ήβη με αύξηση της απελευθέρωσης της GnRH. (Miller & Core 2001, Daftary & Core 2003, 2004).

Τα αποτελέσματα αυτής της εργασίας έδειξαν ότι οι συγκεντρώσεις της T3 των αρσενικών αμνών σημείωσαν στατιστικώς σημαντική αύξηση με τη δημιουργία αιχμής 30 μέρες πριν την ήβη και σημαντική μείωση αμέσως μετά στις 15 μέρες πριν την ήβη. Στα αρσενικά η εμπλοκή της τριωδοθυρονίνης (T3) στον έλεγχο πολλαπλασιασμού και στη διαφοροποίηση των κυττάρων Sertoli είναι ευρέως αποδεκτή, όπως επίσης και ο ρόλος της στη διαφοροποίηση των κυττάρων Leydig και στη στεροειδογένεση. Η παρουσία υποδοχέων των θυροειδικών ορμονών στα κύτταρα του όρχη κατά την αναπαραγωγική ωρίμανση και ενήλικη ζωή δείχνει ότι η T3 ίσως δρα απευθείας σε αυτά τα κύτταρα. (Wagner *et al.*, 2008)

Υψηλές συγκεντρώσεις θυρεοειδικών ορμονών ενισχύουν τη παραγωγή ABP (πρωτεΐνη που δεσμεύει τα ανδρογόνα) αυξάνοντας τη παραγωγή τεστοστερόνης.

Η τεστοστερόνη διεγείρει τη σπερματογένεση δρώντας στους γαμέτες. (Ashdown & Hafez 1993). Απευθείας δράσεις των θυρεοειδικών ορμονών στο πολλαπλασιασμό και στη διαφοροποίηση των κυττάρων Sertoli προάγουν τη σπερματογένεση. (Cooke *et al.*, 1994a). (Amir Hooshang Fallah-Rad Interralation between thyroid hormones and onset of puberty in ram lambs Thesis Ph.D.)

Η αύξηση της συγκεντρώσεως T3 στο πλάσμα του αίματος των αρσενικών αμνών που παρατηρήθηκε στην εργασία αυτή και η δημιουργία αιχμής τριάντα μέρες πριν την ενήβωση ίσως να μπορεί να αποδοθεί στο ότι αποτελεί μέρος του μηχανισμού προώθησης της σπερματογένεσης και της παραγωγής τεστοστερόνης εισάγοντας τον αρσενικό αμνό στην ήβη.

Η θυροξίνη (T₄) και η τριιωδιοθορονίνη (T₃) εμπλέκονται στην ανάπτυξη και στη διαφοροποίηση των ιστών καθώς και σε πολυάριθμες σωματικές λειτουργίες με έμφαση στο μεταβολισμό. Οι ορμόνες του θυρεοειδούς αδένα διαδραματίζουν σπουδαίο ρόλο στον έλεγχο της εποχικής αναπαραγωγής του προβάτου προκαλώντας τη διακοπή της αναπαραγωγικής δραστηριότητας στο τέλος της αναπαραγωγικής περιόδου κατά τη μετάβαση στην άνοιστη περίοδο (Karsch *et al.*, 1995). Παρόλα αυτά όμως, είναι ελάχιστες οι ενδείξεις που να υποστηρίζουν ότι η συγκέντρωση των θυρεοειδικών ορμονών στη κυκλοφορία του πλάσματος του αίματος συμβάλλει σε κάποιο μονοπάτι μεταβίβασης μηνύματος που να συνδέει το ενεργειακό ισοζύγιο με την αναπαραγωγή.

Έρευνες έχουν καταλήξει στο συμπέρασμα ότι οι κυκλοφορούσες συγκεντρώσεις των θυρεοειδικών ορμονών σχετίζονται περισσότερο με τη πρόσληψη τροφής παρά με τη κατάσταση του λιπώδους ιστού (McCann *et al.*, 1992, Caldeira *et al.*, 2007).

Θηλυκοί αμνοί που εισήλθαν νωρίτερα στην ήβη είχαν παρόμοιες συγκεντρώσεις T₃, T₄ με θηλυκούς αμνούς που εισήλθαν στην ήβη αργότερα. Οι συγκεντρώσεις T₃, T₄ ήταν παρόμοιες σε δύο ομάδες από τις οποίες η μία περιελάμβανε ελαφριές και η άλλη, βαρύτερες προβατίνες. Η T₄ παρουσιάζει χαμηλές τιμές πριν την ήβη και αυξάνεται σταδιακά κατά την ήβη φτάνοντας σε αιχμή πριν την είσοδο σε άνοιστη περίοδο. (Stoner *et al.*, 2005).

Οι συγκεντρώσεις T3 των θηλυκών αμνών σημείωσαν στατιστικώς σημαντική αύξηση 30 μέρες πριν την ήβη και 30 μέρες μετά την ήβη, ενώ μειώθηκαν σημαντικά 90 μέρες μετά την ήβη. Οι μεταβολές της T3 στην περί την ήβη περίοδο ίσως διαδραματίζουν κάποιο ρόλο για την είσοδο στην ήβη καθώς ρυθμίζουν τη μείωση της ευαισθησίας στην αρνητική παλίνδρομη ρύθμιση της οιστραδιόλης. Η υψηλή ευαισθησία στην οιστραδιόλη δρα κατασταλτικά στην έκκριση της LH και ως εκ τούτου η T3 μειώνει την ευαισθησία στην οιστραδιόλη επιτρέποντας τη δημιουργία αιχμής της LH για τη πρόκληση της ωοθυλακιορρηξίας.

Στα πλαίσια διδακτορικής διατριβής που διεξάχθηκε στο εργαστήριο Γενικής και Ειδικής Ζωοτεχνίας του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών στην οποία μελετήθηκε η ηλικία της ήβης αμνάδων των φυλών Χίου και Καραγκούνικης σε σχέση με το επίπεδο διατροφής παρατηρήθηκε αισθητή αύξηση των τιμών της T3 μετά την ηλικία των 120-150 ημερών ενώ οι τιμές της T4 δεν παρουσίασαν ουσιαστική μεταβολή στην υπό εξέταση περίοδο. Το ενεργειακό επίπεδο διατροφής δεν έχει καμμία επίδραση στο ύψος της T4, ενώ οι αμνάδες με υψηλό επίπεδο διατροφής έδειξαν γενιά μεγαλύτερες τιμές T3 από τις αμνάδες με χαμηλό επίπεδο διατροφής, αν και οι διαφορές αυτές κατά κανόνα δεν ήταν στατιστικά σημαντικές.

(Ιωσήφ Μπιζέλη Ηλικία της ήβης και χαρακτηριστικά της πρώτης οιστρικής περιόδου αμνάδων των φυλών Χίου και Καραγκούνικης σε σχέση με το επίπεδο διατροφής Διδακτορική Διατριβή 1989)

Η απαίτηση δημιουργίας κάποιου ελάχιστου ποσοστού σωματικού λίπους και απόκτησης κάποιου επιπέδου σωματικού βάρους αναδεικνύεται από τη θετική συσχέτιση που έχουν με το σωματικό βάρος οι μεταβολικές ορμόνες, ινσουλίνη-λεπτίνη-IGF-1 στους αρσενικούς αμνούς πριν την ήβη και ινσουλίνης-λεπτίνης-T3 στους θηλυκούς αμνούς πριν την ήβη, ενώ μετά την είσοδο στην ήβη, παύουν οι θετικές συσχετίσεις των μεταβολικών ορμονών με το σωματικό βάρος. Στους θηλυκούς αμνούς μάλιστα παρατηρήθηκε αρνητική συσχέτιση ανάμεσα στο σωματικό βάρος και στα IGF-1 μετά την ήβη.

Αρσενικοί αμνοί πριν την ήβη:

Παρατηρήθηκε θετική συσχέτιση στους αρσενικούς αμνούς πριν την ήβη μεταξύ σωματικού βάρους και των ορμονών ινσουλίνη, λεπτίνη και IGF-1.

Οι συγκεντρώσεις ινσουλίνης σχετίζονται θετικά με τη θρεπτική κατάσταση του ζώου (Hileman *et al.*, Studer *et al.*). Η έκκριση ινσουλίνης εμφανίζει υψηλή συσχέτιση με το σπλαχνικό λίπος και η έκκριση λεπτίνης με το υποδόριο λίπος (Cigolini M *et al.*, 1995, Dua A *et al.*, 1996). Η πρόσληψη τροφής αυξάνει την έκκριση ινσουλίνης στη κυκλοφορία η οποία αυξάνει την αποθήκευση λίπους προς την επίτευξη του κρίσιμου σωματικού βάρους για την είσοδο στην ήβη. Οι περιφερικές συγκεντρώσεις λεπτίνης αυξάνονται καθώς αυξάνονται τα αποθέματα λίπους. Με άλλα λόγια η ινσουλίνη ενημερώνει τον υποθάλαμο για την διαθεσιμότητα της ενέργειας την εκάστοτε χρονική στιγμή ενώ η λεπτίνη ενημερώνει τον υποθάλαμο για την εφεδρική ενέργεια που έχει αποθηκευτεί ως λίπος.

Το ήπαρ παράγει IGF-1 σε ανταπόκριση στη διέγερση από την αυξητική ορμόνη.

Οι συγκεντρώσεις της αυξητικής ορμόνης και των IGF-1 μεταβάλλονται ανάλογα με αλλαγές στη διατροφική κατάσταση. Θετικό ενεργειακό ισοζύγιο οδηγεί σε χαμηλότερα επίπεδα αυξητικής ορμόνης και υψηλότερα IGF-1. (Hayden *et al.*, 1993)

Με τη διατροφή η παραγωγή IGF-1 αυξάνεται λόγω της αυξήσεως της ευαισθησίας των υποδοχέων της αυξητικής ορμόνης στην ανταπόκριση από την αύξηση της ινσουλίνης. Ίσως οι IGF-1 λειτουργούν και ως σήμα που μεταφράζει τη θρεπτική κατάσταση του οργανισμού στον υποθάλαμο και ως εκ τούτου συσχετίζονται θετικά με το σωματικό βάρος των αρσενικών αμνών πριν την ήβη. Υποδοχείς για τους IGF-1 έχουν εντοπιστεί στα κύτταρα της GnRH (GT-17), στη μέση περιοχή, στη προοπτική περιοχή και στο μεσοβασικό υποθάλαμο των τρωκτικών. (Bohannon *et al.*, 1988, Daftary & Core 2004, Olson *et al.*, 1995, Miller *et al.*, 2001). Στη διάρκεια της αναπαραγωγικής ωρίμανσης λαμβάνουν χώρα μεταβολές στον αριθμό των υποδοχέων των IGF-1 που βρίσκονται στους νευρώνες της GnRH, υποδηλώνοντας πιθανό άμεσο ρόλο των IGF-1 στην απελευθέρωση της GnRH. (Daftary and Core, 2004). Σε ομάδες ταύρων διατρεφόμενες με διαφορετικά επίπεδα διατροφής, στη διάρκεια της πρώτης αυξήσεως των γοναδοτροπινών παρατηρήθηκε ότι συμπίπτουν οι μεταβολές των IGF-1 με την έκκριση της LH. (Brito *et al.*, 2007).

Ένα άλλο εύρημα της παρούσας εργασίας ήταν η παρατηρηθείσα θετική συσχέτιση στους αρσενικούς αμνούς πριν την ήβη ανάμεσα στα ζεύγη ορμονών, ινσουλίνη - λεπτίνη, ινσουλίνη-IGF-1, ινσουλίνη- T3 καθώς και λεπτίνη - IGF-1 και IGF-1 - T3. Στην έρευνα των Brito *et al.* (2007) σε αναπτυσσόμενους ταύρους σημειώθηκε θετική συσχέτιση ανάμεσα στην λεπτίνη, την ινσουλίνη και τον IGF-1.

Η ινσουλίνη επηρεάζει τη σύνθεση και έκκριση της λεπτίνης και η λεπτίνη ρυθμίζει τη δράση της ινσουλίνης. Οι ορμόνες του θυροειδούς επίσης αυξάνουν την έκκριση της ινσουλίνης. Επειδή οι IGF-1 μπορούν να συνδέονται και με τους υποδοχείς της ινσουλίνης είναι πιθανή η αλληλεπίδραση μεταξύ των δύο αυτών ορμονών. Οι IGF-1 ως τελικός παράγοντας δράσης της αυξητικής ορμόνης σε συνεργασία με την ινσουλίνη προάγουν τη πρωτεϊνοσύνθεση η οποία είναι ζωτικής σημασίας για την ανάπτυξη του οργανισμού.

Η ινσουλίνη και η αυξητική ορμόνη ευνοούν την είσοδο αμινοξέων στα κύτταρα του μυϊκού ιστού προάγοντας τη πρωτεϊνοσύνθεση. (Ζέρβας, Καλαϊσάκης, Φεγγερός, 2000).

Έχει παρατηρηθεί (Houseknecht *et al.*, 2000) έντονη συσχέτιση ανάμεσα στην έκφραση της λεπτίνης και στην έκφραση των IGF-1 στο λιπώδη ιστό επίμυων, βοοειδών και χοίρων.

Η λεπτίνη προάγει το πολλαπλασιασμό των ηπατικών κυττάρων, ενώ η ινσουλίνη και τα IGF-1 ασκούν βραχυπρόθεσμες μεταβολικές επιδράσεις, όπως η λιπογένεση και η σύνθεση γλυκογόνου, αλλά και μακροπρόθεσμες όπως η σύνθεση RNA και ο πολλαπλασιασμός των κυττάρων. Επειδή οι IGF-1 μπορούν να παράγονται τοπικά ενδέχεται να δρουν παρακρινικά ή αυτοκρινικά στους όρχεις και οι IGF-1 της περιφέρειας να διαδραματίζουν δευτερεύοντα – επικουρικό ρόλο στην ανάπτυξη και λειτουργία των όρχεων.

Οι ορμόνες του θυροειδούς αδένα αυξάνουν την έκκριση της αυξητικής ορμόνης η οποία διεγείρει την ελευθέρωση IGF-1 από το ήπαρ, οι οποίοι με μηχανισμό παλίνδρομης ρύθμισης διεγείρουν την έκκριση της σωματοστατίνης από τον υποθάλαμο και αναστέλλουν την έκκριση της αυξητικής ορμόνης από την υπόφυση. Σε αρσενικούς αμνούς με υποθυροειδισμό ή υπερθυροειδισμό τα επίπεδα τεστοστερόνης και η συχνότητα παλμών της LH δεν μεταβλήθηκαν. Ο

υποθυρεοειδισμός δεν μετέβαλε το μέγεθος των όρχεων, αλλά μείωσε τη παραγωγή σπέρματος. Ο υπερθυρεοειδισμός αύξησε τη παραγωγή σπέρματος και το μέγεθος των όρχεων. Οι συγκεντρώσεις των IGF-1 ήταν χαμηλές στους αμνούς και των δύο ομάδων, με υποθυρεοειδισμό ή υπερθυρεοειδισμό, αλλά μόνο κατά τη διάρκεια πρόκλησης του υποθυρεοειδισμού και του υπερθυρεοειδισμού, υποδεικνύοντας το αρνητικό αντίκτυπο του χειρισμού του θυρεοειδούς στα IGF-1. Επομένως, οι ορμόνες του θυρεοειδούς ασκούν σημαντικό ρόλο στη λειτουργία και στην ανάπτυξη του αναπαραγωγικού συστήματος του αρσενικού νωρίς στη ζωή και ο υποθυρεοειδισμός ή ο υπερθυρεοειδισμός μπορούν να αλλάξουν τα πλαίσια των αναπαραγωγικών διεργασιών στο αρσενικό πρόβατο.

(Amir Hooshang Fallah-Rad Interralation between thyroid hormones and onset of puberty in ram lambs Thesis Ph.D, University of Manitoba)

Αρσενικοί αμνοί μετά την ήβη: Όσον αφορά στους αρσενικούς αμνούς μετά την ήβη θετική συσχέτιση παρατηρήθηκε μεταξύ ινσουλίνης και λεπτίνης καθώς και μεταξύ λεπτίνης και IGF-1. Η θετική συσχέτιση ινσουλίνης και λεπτίνης διατηρήθηκε μέχρι και 45 μέρες μετά την είσοδο των αρσενικών αμνών στην ήβη. Αυτή η καθυστέρηση μπορεί να αποδοθεί στη διάρκεια των 47 (κατά Hafez) ή 49 (κατά McDonald) ημερών που διαρκεί η σπερματογένεση στο κριό. Έτσι ενώ αυξήθηκε και διατηρήθηκε η συγκέντρωση της τεστοστερόνης ≥ 1 ng/ml λόγω της διέγερσης των γοναδοτροπινών εισάγοντας τον αρσενικό αμνό στην ήβη (Olster *et al.*, 1986), απαιτήθηκε χρονικό διάστημα 45 περίπου ημερών προκειμένου να ολοκληρωθεί η σπερματογένεση. Καθώς οι IGF-1 εντοπίζονται στον υποθάλαμο και στις γονάδες επηρεάζουν την αναπαραγωγική λειτουργία δρώντας στον άξονα υποθάλαμος – υπόφυση – γονάδες με ενδοκρινικό αλλά και παρακρινικό και αυτοκρινικό τρόπο. Έτσι οι συγκεντρώσεις τους στη κυκλοφορία διαδραματίζουν επικουρικό ρόλο στη δράση των IGF-1 που παράγονται τοπικά προκειμένου να επιδράσουν στην έκκριση των γοναδοτροπινών. Επειδή οι IGF-1 παράγονται ανάλογα με τη θρεπτική κατάσταση του ζώου και αποτελούν τελικό παράγοντα δράσης της αυξητικής ορμόνης, της οποίας την έκκριση ρυθμίζουν με αρνητική παλίνδρομη ρύθμιση, θεωρείται ότι συγχρονίζουν την αναπαραγωγική ωρίμανση με την ανάπτυξη του σώματος.

Διάφοροι ερευνητές έχουν διαπιστώσει συσχέτιση ανάμεσα στη λεπτίνη και στον IGF-1 στο λιπώδη ιστό. Διάφορες ερευνητικές ομάδες έχουν αναφέρει ότι η λεπτίνη ρυθμίζει την έκκριση της αυξητικής ορμόνης στα τρωκτικά (Carro *et al.*, 1997, 1998, 1999, Tannenbaum *et al.*, 1998, Vuagnat *et al.*, 1998), στο πρόβατο (Roh *et al.*, 1998), και στο χοίρο (Barb *et al.*, 1998). Ακόμη εξωγενής χορήγηση λεπτίνης μπορεί να εμποδίσει τη μείωση πρόσληψης τροφής που οφείλεται στη μείωση της εκκρίσεως αυξητικής ορμόνης αλλά όχι στην έκκριση των IGF-1, σε υπό νηστεία επίμυες. (LaPaglia *et al.*, 1998).

Άλλοι ερευνητές (Hardie *et al.*, 1996, Isozaki *et al.*, 1999) δεν διαπίστωσαν άμεση δράση των IGF-1 στην έκφραση της λεπτίνης καταλήγοντας στο συμπέρασμα ότι η δράση της αυξητικής ορμόνης στη λεπτίνη δεν πραγματοποιείται μέσω των IGF-1. Όμως, άλλοι ερευνητές (Boni-Schenetzler *et al.*, 1999, Reul *et al.*, 1997) ανέφεραν μια αρνητική δράση των IGF-1 στην γονιδιακή έκφραση της λεπτίνης, που σημαίνει ότι απαιτείται πιο ενδελεχής έρευνα προκειμένου να διευκρινιστεί εάν οι δράσεις της αυξητικής ορμόνης στην γονιδιακή έκφραση της λεπτίνης γίνονται μέσω των IGF-1 ή όχι.

Η υψηλή συσχέτιση στο λιπώδη ιστό, ανάμεσα στην έκφραση των IGF-1 και της λεπτίνης υπήρξε πολύ σημαντική. Έχει αναφερθεί ότι η αυξητική ορμόνη διεγείρει τη γονιδιακή έκφραση IGF-1 στο λιπώδη ιστό του χοίρου (Coleman *et al.*, 1994) και στην αγελάδα (Houseknecht *et al.*, 2000). Οι Houseknecht *et al.*, παρατήρησαν σε τρεις αγελάδες που βρισκότουσαν σε αρνητικό ενεργειακό ισοζύγιο στη διάρκεια χορήγησης αυξητικής ορμόνης, ότι μειώθηκε η έκφραση της λεπτίνης ενώ η έκφραση των IGF-1 μειώθηκε ή δεν μεταβλήθηκε. Η έντονη συσχέτιση ανάμεσα στη λεπτίνη και στα IGF-1 φαίνεται ότι είναι ανεξάρτητη από την ανταπόκριση στη χορήγηση αυξητικής ορμόνης.

Οι Fine *et al.*, (1998) παρατήρησαν υψηλή συσχέτιση στο λιπώδη ιστό ανάμεσα σε λεπτίνη και IGF-1 και σε επίμυες που είχαν διατραφεί φυσιολογικά και σε επίμυες υπό νηστεία.

Θηλυκοί αμνοί πριν την ήβη: Στην παρούσα εργασία παρατηρήθηκε θετική συσχέτιση πριν την ήβη μεταξύ σωματικού βάρους και των ορμονών ινσουλίνη, λεπτίνη και T3.

Η έκκριση ινσουλίνης αποβλέπει στη πρόσληψη γλυκόζης από τα κύτταρα και στην αποθήκευση λίπους ώστε να δημιουργηθούν τα απαραίτητα ενεργειακά αποθέματα για το ενεργοβόρο έργο της αναπαραγωγής. Η αύξηση του λίπους οδηγεί στην αύξηση της εκκρίσεως της λεπτίνης και στην αύξηση του σωματικού βάρους.

Η λεπτίνη διαδραματίζει επιτρεπτικό ρόλο ενημέρωσης του υποθαλάμου ότι έχει αναπτυχθεί η απαιτούμενη μυϊκή μάζα, ότι βρίσκεται στη φάση της αναβολικής ανάπτυξης καθώς και ότι έχει αποταμιευτεί το απαιτούμενο σωματικό λίπος για την υποστήριξη της διαδικασίας της ήβης και ενδεχόμενης κυοφορίας.

Η θετική συσχέτιση ανάμεσα στη T3 και στο σωματικό βάρος μπορεί να αποδοθεί στο ότι η T3 διαδραματίζει επιτρεπτικό ρόλο για την ενήβωση με τη προϋπόθεση να έχει ήδη αποκτηθεί το απαραίτητο σωματικό βάρος για την είσοδο στην ήβη.

Θετική συσχέτιση παρατηρήθηκε ακόμη στους θηλυκούς αμνούς πριν την ήβη μεταξύ των ορμονών ινσουλίνης και λεπτίνης. Οι ορμόνες ινσουλίνη και λεπτίνη είναι σημαντικές για τον έλεγχο της πρόσληψης τροφής και του ενεργειακού ισοζυγίου. Η λεπτίνη ως περιφερικό σήμα φτάνει σε συγκεκριμένες περιοχές του υποθαλάμου που εμπλέκονται για τη συμπεριφορά πρόσληψης τροφής.

Η ινσουλίνη επηρεάζει τη σύνθεση και έκκριση της λεπτίνης και η λεπτίνη ρυθμίζει τη δράση της ινσουλίνης (υποδοχείς της λεπτίνης έχουν βρεθεί στα β κύτταρα του παγκρέατος, η ινσουλίνη διεγερει την έκκριση της λεπτίνης και μικρές συγκεντρώσεις λεπτίνης διεγείρουν την έκκριση της ινσουλίνης, ενώ μεγάλες συγκεντρώσεις λεπτίνης αναστέλλουν την έκκριση της ινσουλίνης. (Asakuma *et al.*, 2003, Tanizawa *et al.*, 1997 (Baura GD *et al.*, 1993, Banks WA *et al.*, 1996, Saladin *et al.*, 1995, Hardie *et al.*, 1996, Kieffer *et al.*, 1997, Seufert *et al.*, 1999).

Θηλυκοί αμνοί μετά την ήβη: Παρατηρήθηκε αρνητική συσχέτιση ανάμεσα στα IGF-1 και στο σωματικό βάρος.

Ο δείκτης μετατρεψιμότητας τροφής (Feed Conversion Ratio FCR) που δείχνει την αύξηση του σωματικού βάρους ανάλογα με τη ποσότητα τροφής που πρέπει να καταναλωθεί από το ζώο είναι αρνητικά συσχετισμένος με το δείκτη μέσης ημερήσιας

ανάπτυξης στα βοοειδή (Koots *et al.*, 1994). Αντίθετα η διαφορά ανάμεσα στη πραγματική πρόσληψη τροφής και στη τροφή που προβλέπεται με βάση τις ανάγκες για παραγωγή και διατήρηση του σωματικού βάρους να καταναλωθεί από το ζώο (Residual Feed Intake RFI) είναι ανεξάρτητη από τη μέση ημερήσια ανάπτυξη (Archer *et al.*, 1999).

Διάφορες μελέτες έχουν παρατηρήσει την ύπαρξη θετικής συσχέτισης ανάμεσα στο RFI και στις κυκλοφορούσες συγκεντρώσεις σε μόσχους και ταύρους που έχουν διατραφεί με σιτηρέσιο βασισμένο σε χονδροειδείς ζωοτροφές. (Brown *et al.*, 2004, Crews *et al.*, 2002, Moore *et al.*, 2005). Σε μελέτη περί την ήβη βοοειδών δεν παρατηρήθηκε συσχέτιση ανάμεσα σε IGF-1 και RFI σε αντίθεση με άλλες μελέτες (Moore *et al.*, 2005, Brown *et al.*, 2004) λόγω της νεαρότερης ηλικίας των ζώων. Προς το τέλος όμως της τελικής φάσης ανάπτυξης των βοοειδών παρατηρήθηκε αρνητική συσχέτιση ανάμεσα στα IGF-1 με το RFI και με το FCR. Τα βοοειδή δηλαδή με μικρότερο δείκτη μετατρεψιμότητας τροφής εμφανίζουν υψηλότερες συγκεντρώσεις IGF-1.

(Erin Gwen Brown Sources of biological variation in residual feed intake in growing and finishing steers Thesis Ph.D. 2005 Texas A & M University).

Οι Tomas *et al.*, ανακάλυψαν ότι χορηγώντας IGF-1 σε κοτόπουλα επιτυγχάνεται μια βελτίωση στο FCR συγκριτικά με κοτόπουλα στα οποία δεν έγινε χορήγηση IGF-1.

(Tomas *et al.*, 1998). Η βελτίωση στο FCR στα κοτόπουλα αποδόθηκε σε αυξανόμενη κατακράτηση αζώτου, αύξηση των δεικτών ανάπτυξης και μείωση της λιποπεριεκτικότητας του σφαγίου όταν οι συγκεντρώσεις IGF-1 στη κυκλοφορία ήταν υψηλότερες. Στα βοοειδή παρατηρήθηκε ότι υψηλότερες συγκεντρώσεις IGF-1 σχετίζονται με υψηλό RFI στα βοοειδή που ήταν παχύτερα και λιγότερο αποτελεσματικά στη μετατρεψιμότητα τροφής. Οι υψηλότερες συγκεντρώσεις IGF-1 στα βοοειδή με υψηλό δείκτη RFI δεν οδήγησε σε βελτίωση της κατακράτησης αζώτου ή σε πιο αδύνατο σφάγιο.

Οι κυκλοφορούσες συγκεντρώσεις IGF-1 στην έναρξη της τελικής φάσης ανάπτυξης δεν ήταν συσχετισμένες με τους δείκτες μετατρεψιμότητας τροφής στη μελέτη των σε αντίθεση με άλλες μελέτες (Moore *et al.*, 2005, Brown *et al.*, 2004). Ο λόγος μη ύπαρξης συσχέτισης ανάμεσα στα IGF-1 και στο RFI ήταν η ηλικία των ζώων η οποία ήταν η περί την ήβη περίοδος καθώς και ότι το σιτηρέσιό τους δεν ήταν σε μεγάλο

βαθμό χονδροαλεσμένο σε αντίθεση με τις μελέτες που παρατηρήθηκε συσχέτιση ανάμεσα στα IGF-1 και στο RFI.

Οι Richardson *et al.*, συμπέραναν ότι βοοειδή με υψηλότερο δείκτη RFI έχουν υψηλότερο ρυθμό διάσπασης πρωτεϊνών (καταβολισμός πρωτεϊνών) συγκριτικά με βοοειδή με χαμηλότερο RFI. (Richardson *et al.*, 1996). Στα αναπτυσσόμενα βοοειδή χαμηλά επίπεδα RFI σχετίζονται με χαμηλές συγκεντρώσεις IGF-1 (Brown *et al.*, 2004, Moore *et al.*, 2003) και λιγότερο παχύ σφάγιο. (Arthur *et al.*, 1997, Basarab *et al.*, 2003).

Ίσως μετά την εισαγωγή των θηλυκών αμνών στην ήβη να διαμορφώνεται αρνητική συσχέτιση ανάμεσα στα IGF-1 και στους δείκτες ανάπτυξης όπως έχει παρατηρηθεί στα βοοειδή και στα κοτόπουλα. Η μη ύπαρξη συσχέτισης ανάμεσα σε IGF-1 και σωματικό βάρος ίσως οφείλεται στο νεαρό της ηλικίας των θηλυκών αμνών όπως έχει παρατηρηθεί και στα βοοειδή. Όμως καθώς τα θηλυκά πρόβατα ενηλικιώνονται μειώνεται ο δείκτης μετατρεψιμότητας της τροφής τους και εμφανίζονται υψηλότερες συγκεντρώσεις IGF-1.

5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ :

- Η ορμόνη λεπτίνη ενημερώνει τον υποθάλαμο για αποθέματα λίπους του οργανισμού τα οποία διασφαλίζουν τη πρώτη ύλη παραγωγής των στεροειδών του φύλου καθώς και τα ενεργειακά αποθέματα προκειμένου ο θηλυκός αμνός να φέρει εις πέρας ενδεχομένη κυοφορία.
- Διακρίνουμε στα αρσενικά ότι για τη πρόκληση της μέγιστης παραγωγής τεστοστερόνης πρέπει να προηγηθεί μία αιχμή της λεπτίνης η οποία χρονικά συμπίπτει με την ολοκλήρωση της σπερματογένεσης στις 45 μέρες μετά την ήβη. Ακολούθως οι συγκεντρώσεις λεπτίνης πρέπει να μειωθούν επειδή η λεπτίνη αναστέλλει στους όρχεις τη παραγωγή τεστοστερόνης η οποία απαιτείται για την ωρίμανση που συμβαίνει κατά την ήβη.
- Στα θηλυκά μετά την είσοδό τους στην ήβη, τα επίπεδα λεπτίνης διατηρούνται από τα οιστρογόνα τα οποία είτε αυξάνουν την έκκριση λεπτίνης (όπως συμβαίνει στη χοίρο) είτε αυξάνουν την ευαισθησία των υποδοχέων της λεπτίνης (όπως συμβαίνει στις μοσχίδες). Και αυτό γιατί επειδή το θηλυκό προορίζεται για τη κυοφορία απαιτείται διαρκής ενημέρωση του υποθαλάμου για την ύπαρξη των απαιτούμενων ενεργειακών αποθεμάτων.
- Οι IGF-1 φαίνεται να συγχρονίζουν τη σωματική ανάπτυξη με την αναπαραγωγική ωρίμανση εξυπηρετώντας την ανάπτυξη ως τελικοί παράγοντες δράσης της αυξητικής ορμόνης την έκκριση της οποίας ρυθμίζουν με αρνητική παλίνδρομη ρύθμιση.
- Η ορμόνη ινσουλίνη, καθιστά τη γλυκόζη προσιτή στους ιστούς παρέχοντας τους άμεσα ενέργεια και παράλληλα συντελεί στη δημιουργία λίπους ως αποθήκης ενέργειας για μελλοντική χρήση. Η ινσουλίνη σε συνεργασία με την αυξητική ορμόνη που δρα μέσω των IGF-1 εξασφαλίζουν την απαραίτητη για την αναπαραγωγική ωρίμανση του οργανισμού πρωτεϊνοσύνθεση.
- Η T3 αναλαμβάνει το ρόλο της χρονικής διασφάλισης του τοκετού στη περίπτωση κυοφορίας την εποχή της άνοιξης που αναμένεται πλούσια βλάστηση με το να επιτρέψει την είσοδο στην ήβη όταν έχει αρχίσει να μικραίνει η μέρα

σε συνεργασία με τη πληροφορία φωτοπεριόδου που παρέχει η μελατονίνη από την επίφυση.

- Ειδικότερα για το αρσενικό φύλο, η T3 επιτελεί σπουδαίο ρόλο στην ανάπτυξη των όρχεων και στη παραγωγή των στεροειδών ορμονών και ενδεχομένως για αυτό το λόγο να αυξάνονται τα επίπεδά της στα αρσενικά 30 μέρες πριν την είσοδό τους στην ήβη.
- Ειδικότερα για το θηλυκό φύλο, η T3 μειώνει την ευαισθησία στην αρνητική παλίνδρομη ρύθμιση των οιστρογόνων στη GnRH, επιτρέποντας τη δημιουργία αιχμής της LH και την ωοθυλακιορρηξία.
- Πριν την είσοδο στην ήβη, στα αρσενικά παρατηρήθηκαν θετικές συσχετίσεις των ορμονών ινσουλίνη, λεπτίνη και IGF-1 με το σωματικό βάρος και στα θηλυκά παρατηρήθηκαν θετικές συσχετίσεις ανάμεσα στις ορμόνες ινσουλίνη, λεπτίνη και T3 με το σωματικό βάρος. Μετά την είσοδο στην ήβη παύει η θετική συσχέτιση των μεταβολικών ορμονών με το σωματικό βάρος επειδή ο σκοπός επίτευξης του κρίσιμου σωματικού βάρους έχει επιτευχθεί επιτρέποντας την εισαγωγή του αμνού στην ήβη. Σημειώθηκε μάλιστα στα θηλυκά, αρνητική συσχέτιση ανάμεσα στα IGF-1 και στο σωματικό βάρος.
- Στη περίοδο πριν την είσοδο στην ήβη παρατηρήθηκαν στα αρσενικά, θετικές συσχετίσεις ανάμεσα στα ζεύγη ορμονών, ινσουλίνη – λεπτίνη, ινσουλίνη- T3, ινσουλίνη-IGF-1, λεπτίνη- IGF-1 και T3-IGF-1 και στα θηλυκά, ανάμεσα στα ζεύγη ορμονών, ινσουλίνη – λεπτίνη και λεπτίνη – T3. Μετά την είσοδο στην ήβη, παρέμειναν στα αρσενικά οι θετικές συσχετίσεις ανάμεσα σε ινσουλίνη – λεπτίνη και λεπτίνη- IGF-1 ενώ στα θηλυκά έπαψαν οι συσχετίσεις ανάμεσα στις μεταβολικές ορμόνες που μελετήθηκαν.

Το ζήτημα επίδρασης των μεταβολικών ορμονών στην έναρξη της ήβης στο πρόβατο είναι πολύ σύνθετο και χρήζει περισσότερης και πιο ενδελεχούς διερεύνησης.

6. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ

Ελληνόγλωσση βιβλιογραφία:

- Ζέρβα Γ. Καθηγητού, Καλαϊσάκη Π Ομότιμου Καθηγητού, Φεγγερού Κ, Καθηγητού Διατροφή Αγροτικών Ζώων
Εργαστήριο Διατροφής Ζώων του Τμήματος Ζωϊκής Παραγωγής του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών εκδόσεις Σταμούλης
- Ήλιος ΕΓΚΥΚΛΟΠΑΙΔΙΚΟ ΛΕΞΙΚΟ
- Μενεγάτος Ι, Γούλας Χ, και Καλογιάννης Δ. (2006). The productivity, ovarian and thyroid activity of ewes in an accelerated lambing system in Greece.
Small Ruminant Research **65**, 209-216.
- Μενεγάτος Ι., Καθηγητής Ανατομίας και Φυσιολογίας του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών
Σημειώσεις της Νευροενδοκρινολογίας της Αναπαραγωγής Εργαστηριακές Σημειώσεις (2002)
- Μιχαήλ Γ. Συγκριτική Ανατομική των Κατοικιδίων Θηλαστικών
Εκδοτικός Οίκος Αδελφών Κυριακίδη (1997)
- Μπαλάσκας Χ. Επίκουρος Καθηγητής Ανατομίας και Φυσιολογίας Αγροτικών Ζώων
Του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών
Σημειώσεις στους μεταπτυχιακούς φοιτητές του τμήματος Ζωϊκής Παραγωγής της κατεύθυνσης της φυσιολογίας της αναπαραγωγής (2006)
- Μπαμπινιώτης Γεωργίος Καθηγητής Γλωσσολογίας στο Πανεπιστήμιο Αθηνών
Λεξικό της Νέας Ελληνικής Γλώσσας Αθήνα 2004
- Ρογδάκης Ε. Εμμανουήλ, Καθηγητής Γενικής και Ειδικής Ζωοτεχνίας του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών Αναπαραγωγή του Προβάτου Εκδόσεις Σταμούλης 2004

- Σμοκοβίτης Α. Αθανάσιος Καθηγητής Φυσιολογίας στην Κτηνιατρική Σχολή του Αριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης και Honorar Professor Φυσιολογίας στην Ιατρική Σχολή του Πανεπιστημίου της Βιέννης Φυσιολογία Εκδοτικός Οίκος Αδελφών Κυριακίδη 2004
- Χαδιώ Σ. Επίκουρη Καθηγήτρια Φυσιολογίας Αγροτικών Ζώων του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών
Σημειώσεις στους μεταπτυχιακούς φοιτητές του τμήματος Ζωϊκής Παραγωγής της κατεύθυνσης της φυσιολογίας της αναπαραγωγής, (2006).

Ξενόγλωσση βιβλιογραφία:

- American Diabetes Association: Type 2 diabetes in children and adolescents. *Pediatrics* **105**: 671-680, 2000
- Amstalden M Harms PG, Welsh Jr TH, Randel RD, Williams GL. Effects of leptin on gonadotropin-releasing hormone release from hypothalamic-infundibular explants and gonadotropin release from adeno-hypophyseal primary cell cultures: further evidence that normally-nourished cattle are resistant to leptin. *Animal Reproductive Sciences* 2005, **85** (1-2):41-52
- Abbott, C.R., Rossi M., Wren A., M., Murphy K.G., Kennedy A.R., Stanley S.A., Zollner A.N., Morgan D.G., Ghatgei M.A., Small C.J., and Bloom S.R. (2001). Evidence of an orexigenic role for cocaine- and amphetamine-regulated transcript after administration into discrete hypothalamic nuclei. *Endocrinology* **142**, 3457-63.
- Adam C., Archer Z, Findlay P, Thomas L, Marie M., Hypothalamic gene expression in sheep for Cocaine-and Amphetamine-Regulated Transcript, Pro-Opiomelanocotin, Neuropeptide Y, Agouti-Related Peptide and Leptin Receptor and Responses to Negative

- Energy Balance.
Neuroendocrinology (2002). **75**: 250-256.
- Adam C.L., Archer, Z.A., Findlay P.A., Thomas L., and Marie M (2002). Hypothalamic gene expression in sheep for cocaine-and amphetamine-regulated transcript, pro-opiomelanocortin, neuropeptide Y, agouti-related peptide and leptin receptor and responses to negative energy balance.
Neuroendocrinology **75**, 250-6
- Adam CL., Gadd TS., Findlay PA., Wathes DC., IGF-I stimulation of luteinizing hormone secretion, IGF-I binding proteins (IGFBPs) and expression of mRNAs for IGFs, IGFs receptors and IGFBPs in the ovine pituitary gland.
Journal Endocrinology **166**: 247-254, 2000.
- Adam CL., Findlay PA, Moore AH. Effects of insulin-like growth factor-1 on luteinizing hormone secretion in sheep.
Animal Reproductive Science 1998. **50**:45-56.
- Adam CL., And Findlay P.A., Effect of nutrition in testicular growth and plasma concentrations of gonadotropins, testosterone and insulin-like growth factor I (IGF-1) in pubertal male Soay sheep
Journal of Reproduction and Fertility (1997) **111**, 121-125
- Adam CL., Kyle CE, Young P & Atkinson T (1995). Effect of nutritional growth restriction on timing of reproductive development and plasma concentrations of insulin-like growth factor-1 and growth hormone in male red deer (*Cervus elaphus*) reared in constant photoperiod.
Animal Science **61** 155-160
- Adam CL., Findlay PA, Kyle CE, Young P and Mercer J G
Effect of chronic food restriction on pulsatile luteinizing hormone secretion and hypothalamic neuropeptide Y gene expression in castrate male sheep
Journal of Endocrinology (1997) **152**, 329-337
- Adam, Cl., Findlay P.A., Kyle C.E, Young P., and Mercer, J.G. (1997). Effect of chronic food restriction on pulsatile luteinizing hormone

- secretion and hypothalamic neuropeptide Y gene expression in castrate male sheep.
Journal of Endocrinology **152**, 329-37
- Ahima R.S., Prabakaran, D., Mantzoros, C., Qu, D., Lowell, B., Maratos – Flier, E., and Flier, J.S. (1996). Role of leptin in the neuroendocrine response to fasting.
Nature **382**, 250-2
- Ahima R.S., And Flier, J.S. (2000) Leptin.
Annu Rev Physiology **62**, 413-37
- Ahima R.S., Prabakaran Daniel, and Flier Jeffrey
Postnatal Leptin Surge and Regulation of Circadian Rhythm of Leptin by Feeding
Implications for Energy Homeostasis and Neuroendocrine Function
J Clinical Investigation(1998), Volume **101**, Number 5, 1020-1027
- Ahima RS., Prabakaran D, Mantzoros C, Qu D, Lowell B, Maratos-Flier E, Flier JS. Role of leptin in the neuroendocrine response to fasting.
Nature 1996, **382**: 250-252
- Ahima RS., Prabakaran D, Mantzoros C, Qu D, Lowell B, Maratos- Flier E, Flier JS. Role of leptin in neuroendocrine response to fasting.
Nature 1996, **382**:250-2.
- Allen, Y.S., Adrian T.E., Allen, J.M., Tatemoto, K., Crow, T.J., Bloom, S.R., and Polak, J.M., (1983). Neuropeptide Y distribution in the rat brain.
Science **221**, 877-9
- Amiel SA., Sherwin RS, Simonson DC, Lauritano AA, Tamborlane WV 1986. Impaired insulin action in puberty.
New England Journal of Medicine **315**: 215-219
- Amstalden M., Zieba DA, Edwards JF, Harns PG, Welsh TH, Stanko PL, Williams GL. Leptin acts at the bovine adenohypophysis to enhance basal and gonadotropin-releasing hormone-mediated release of luteinizing hormones: differential effects are dependent

- upon nutritional history.
Biology of Reproduction 2003. **69**: 1539-1544.
- Anderson GM., Connors JM, Hardy SL, Valent M and Goodman RL 2002.
 Thyroid hormones mediate steroid-independent seasonal changes
 in luteinizing hormone pulsatility in the ewe.
Biology of Reproduction **66**, 701-706.
- Apter D., Bolton N.J., Hammond GL & Vihko R (1984) Serum sex
 hormone-binding globulin during puberty in girls and in different
 types of adolescent menstrual cycle.
Acta Endocrinologica **107**, 413-419
- Archer, J. A., E. C. Richardson, R. M. Herd, and P. F. Arthur. 1999. Potential
 for
 selection to improve efficiency of feed use in beef cattle: A
 review. *Aust. J. Agric.*
Res. 50: 147-161.
- Archer, Z.A., Rhind, S.M., Findlay, P.A., Kyle, C.E., Thomas, L., Marie, M and
 Adam, C.L. (2002b). Constracting effects of different levels of
 food intake and adiposity on LH secretion and hypothalamic gene
 expression in sheep.
Journal of Endocrinology **175**, 383-93
- Arias, P, Rodriguez, M., Szwarcfarb, B., Sinay, I.R., and Monguilevsky,
 J.A. (1992) Effect if insulin on LHRH release by perfused
 hypothalamic fragments.
Neuroendocrinology **56**, 415-8
- Arslanian S., Suprasongsin C: Testosterone treatment in adolescents with
 delayed puberty: changes in body composition, protein, fat and
 glucose metabolism.
J Clin Endocrinol Metabolism **82**: 3213-3220, 1997
- Arslanian S., Kalham SC: Correlations between fatty acid and glucose
 metabolism: potential explanation of insulin resistance of puberty.
Diabetes **43**: 908-914, 1995

- Arvat E., Maccario M., Di Vito L., Broglio F., Benso A., Gottero C., et al., Endocrine activities of ghrelin, a natural growth hormone secretagogue (GHS), in humans: comparison and interactions with hexarelin, a non-natural peptidyl GHS, and GH-releasing hormone.
Journal Clinical Endocrinology & Metabolism 2001, **86**: 1169-1174.
- Asakawa A., Injui A., Kaga T., Yuzuriha H., Nagata T., Fujimiya M., et al., A role of ghrelin in neuroendocrine and behavioural responses to stress in mice.
Neuroendocrinology 2001, **74**: 143-147
- Asakawa A., Inui A., Kaga T., Yuzuriha H., Nagata T., Ueno N., et al., Ghrelin is an appetite- stimulatory signal from stomach with structural resemblance to motilin.
Gastroenterology 2001. **120**: 337-345
- Asakuma S., Morishita H, Sugino T, Kurose Y, Kobayashi S, Terashima Y. Circulating leptin response to feeding and exogenous infusion of insulin in sheep exposed to thermoneutral and cold environments.
Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol 2003, **134**: 329-335.
- Aynsley – Green A., Zachman M, Prader A (1976) Interrelation of the therapeutic effects of growth hormone and testosterone on growth in hypopituitarism.
J Pediatric **89**: 992-999
- Bagnasco M., Kalra PS., Kalra SP. Ghrelin and leptin pulse discharge in fed and fasted rats.
Endocrinology 2002, **143**: 726-729
- Bakker J., Baum MJ. Neuroendocrine regulation of GnRH release in induced ovulators.
Frontiers in Neuroendocrinology 2000, **21**: 220-262.
- Balasubramanian, (1997) Neuropeptide Y family of hormones: receptor subtypes and antagonists.
A.A., Peptides **18**, 445-57

- Balsam A., And Ingbar SH., 1978. The influence of fasting, diabetes, and several pharmacological agents on the pathways of thyroxine metabolism in rate liver.
J Clin Invest., **64**, 415-424
- Baranowska B., Wolinska-Witort E, Chmielowska M, Martynska L and Baranowska-Bik A (2003). Direct effects of cocaine-amphetamine-regulated transcript (CART) on pituitary hormone release in putuitary cell culture.
Neuro Endocrinology Letters **24**, 224-6.
- Barash IA Cheung CC, Weight DS, Rem H, Kabigting EB, Kuijper JL, et al. Leptin is a metabolic signal to the reproductive system.
Endocrinology 1996, **137**:3144-7
- Barb CR., Yan X, Azain MJ, Kraeling RR, Rampacek GB & Ramsay TG (1998) Recombinant porcine leptin reduces feed intake and stimulates growth hormone secretion in swine.
Domestic Animal Endocrinology **15** 77-86
- Barker-Gibb And Clarke (1996). Increased galanin and neuropeptide Y immunoreactivity within the hypothalamus of ovariectomized ewes following a prolonged period of reduced body weight correlates with changes in plasma growth hormone levels but not gonadotropin levels.
Neuroendocrinology 1996, **64**, 194-207
- Barraclough CA Neurotransmitter regulation of luteinizing hormone-releasing hormone neuronal function.
Acta Biol Hung 1994, **45**:189-206
- Barreiro ML., Gaytan F., Caminos JE., Pinilla L., Casanueva FF., Aguilar E., Dieguez C & Tena-Sempere M (2002). Cellular location and hormonal regulation of ghrelin expression in rat testis.
Biology of Reproduction **67** 1768-1776
- Barreiro ML., Gaytan F., Castellano JM., Suominen JS., Roa J., Gaytan M., Aguilar E., Dieguez C., Toppari J & Tena – Sempere M (2004). Ghrelin inhibits the proliferative activity of immature Leydig cells in vivo and regulates stem cell factor messenger ribonucleic

- acid expression in rat testis.
Endocrinology **145**, 4825-4834
- Barrett Perry., Ebling Francis JP, Schuhler Sandrine, Wilson Dana, Ross Alexander, Warner Amy, Jethwa Preeti, Boelen Anita, Visser Theo, Ozanne Daniel, Archer Zoe, Mercer Julian, and Morgan Peter
Endocrinology **148(8)**: 3608-3617
- Bartalena L. (1990). Recent achievements in studies on thyroid hormone-binding proteins.
Endocrine Reviews **11**. 47-64.
- Batterham RL., Cowley MA, Small CJ, Herzog H, Cohen MA, Dakin CL, Wren AM, Brynes AE, Low MJ, Ghatei MA, Cone RD, Bloom SR: Gut hormone PYY(3-36) physiologically inhibits food intake.
Nature **418**: 650-654, 2002.
- Bechtold David., Loudon Andrew Hypothalamic Thyroid Hormones: Mediators of Seasonal Physiology (2007)
Endocrinology **148(8)**: 3605-3607
- Belcheva MM., Barg J, McAle R, Coscia J 1994. Naltrexone induced down-and upregulation of d opioid receptors in rat brain regions.
Brain Research Bulletin **35** 69-73
- Berelowitz M., Szabo M., Frohman LA., Firestone S., Chu L., Hintz RL. Somatomedin-C mediates growth hormone negative feedback by affects on both the hypothalamus and the pituitary.
Science **212**:1279-1281, 1981.
- Bergendahl M., Wiemann J.N., Clifton D.K., Huhtaniemi I, and Steiner R.A (1992). Short-term starvation decreases POMC mRNA but does not alter GnRH mRNA in the brain of adult male rats.
Neuroendocrinology **56**, 913-20.
- Bienvenu G., Seurin D., Grellier P., Froment P., Baudrimont M., Monget P., Le Bouc Y., Babajko S. Insulin-like growth factor binding-protein-6 transgenic mice: postnatal growth, brain development, and reproduction abnormalities.
Endocrinology **145**: 2412-2420. 2003.

- Billings HJ., Viguie C, Karsch FL, Goodman RL, Connors JM., and Anderson GM (2002) Temporal requirements of thyroid hormones for seasonal changes in LH secretion.
Endocrinology **143**, 2618-2625
- Billings HJ., Viguie C, Karsch FJ, Goodman RL, Connors JM and Anderson GM (2002). Temporal requirements of thyroid hormones for seasonal changes in LH secretion.
Endocrinology **143**, 2618-2625.
- Bizelis J.A., Deligeorgis S.G. and Rogdakis E. Puberty attainment and reproductive characteristics in ewe lambs of Chios and Karagouniki breeds raised on two planes of nutrition
Department of Animal Breeding and Husbandry, Agricultural University of Athens, Votanicos, 118 55
Animal Reproduction Science, **23** (1990), 197-212
Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam
- Bjorbaek C., Lavery HJ, Bates SH, Olson RK, Davis SM, Flier JS, Myers MG Jr. 2000. SOCS3 mediates feedback inhibition of the leptin receptor via Tyr985.
Journal Biology Chemistry **275**: 40649-40657.
- Bjorbaek C., El- Haschimi K, Frantz JD, Flier JS. (1999). The role of SOCS-3 in leptin signaling and leptin resistance.
Journal Biology Chemistry **274**: 30059-30065.
- Blache D, Zhang S, Martin GB. Fertility in males: modulators of the acute effects of nutrition on the reproductive axis in male sheep. In :
Campell BK, Webb R, Dobson H, Dobseska C (Eds),
Reproduction in Domestic Ruminants V,
Society for Reproduction and Fertility,
Campridge 2003. p. 387-402.
- Blache D., Celi P, Blackberry MA, Dynes RA, Martin GB 2000. Decrease in voluntary feed intake and pulsatile luteinizing hormone secretion after ICV infusion of recombinant bovine leptin immature male sheep.
Reproduction Fertility & Development **12** 373-381

- Blache D., Adam CL, Martin GB. The mature male sheep: a model to study the effects of nutrition on the reproductive axis.
In: Skinner DC, Evans NP, Doberska C (Eds). Large mammals as neuroendocrine models,
Society for Reproduction and Fertility, Cambridge, Reproduction Supplement 2002. **59**: 219-233.
- Blache D., Chagas LM, Blackberry MA, Vercoe PE, Martin BG. Metabolic factors affecting the reproductive axis in male sheep.
J Reprod Fertil 2000; **120**:1-11
- Blache Dominic, Zhang Song, Graeme B. Martin Dynamic and integrative aspects of the regulation of reproduction by metabolic status in male sheep
Reproductive Nutrition Development **46** (2006) 379-390
- Blache, D., Celi, P., Blackberry, M.A., Dynes, R.A., and Martin G.B. (2000b). Decrease in voluntary feed intake and pulsatile luteinizing hormone secretion after intracerebroventricular infusion of recombinant bovine leptin in mature male sheep.
Reproductive Fertility Development **12**, 373-81
- Blache, D., Tellam, R.L., Chagas, L.M., Blackberry, M.A., Vercoe, P.E., and Martin, G.B. (2000d). Level of nutrition affects leptin concentrations in plasma cerebrospinal fluid in sheep.
Journal of Endocrinology **165**, 625-37
- Blair HT., McCutcheon SN, Mackenzie D.D.S., Gluckman PD, Ormsby JE. Variation in plasma concentration of insulin-like growth factor-1 and its covariation with liveweight in mice.
Australian Journal of Biological Sciences **40**: 287-293, 1987
- Blasquez C., Jegou S, Fournier A, Tranchard Bunel D, and Vaudry, H. (1993). Regulation of neuronal alpha-melanocyte-stimulating hormone by neuropeptide Y. In vitro and in vivo studies.
Ann New York Academy of Sciences **680**, 466-9.
- Blaszczk B., Udala J and Gacrzewicz D (2004). Changes in estradiol, progesterone, melatonin, prolactin, and thyroxine concentrations in blood plasma of goats following induced estrus in and outside

- the natural breeding season.
Small Ruminant Research **51**, 209-219.
- Blomqvist, A.G., Herzog, H., 1997. Y-receptor subtypes- how many more?
Trends Neuroscience **20**, 294-298
- Blüher S,
And Mantzoros CS: The role of leptin in regulating
neuroendocrine function in humans.
J Nutr 2004;**134(9)**:2469S-2474S
- Blum F Werner England Piera, Hanitsch Sigrid, Juul Anders, Hertel Niels, Muller
Jorn, Skakkerbaek Niels, Heiman Mark, Birkett Martin, Attanasio
Andrea, Kiess Wieland and Rascher Wolfgang
Plasma leptin levels in healthy children and adolescents:
Dependence on body mass index, body fat mass, gender, pubertal
stage, and testosterone
Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism(1997) Vol
82, No9
- Blum JW., Gings M, Vitins P and Bickel H (1980). Thyroid hormone
levels related to energy and nitrogen balance during weight loss
and regain in adult sheep.
Acta Endocrinologica **93**, 440-447.
- Bohannon N., Corp E, Wilcox B, Figlewicz D, Dorsa D, Baskin D.
Characteristics of insulin-like growth factor-1 receptors in the
median eminence of the brain and their modulation by food
restriction.
Endocrinology 1988; **122**:1940-7
- Bondy C., Werner H., Roberts CT Jr., LeRoith D. Cellular pattern of type-I
insulin-like growth factor receptor gene expression during
maturation of the rat brain: comparison with insulin-like growth
factors I and II.
Neuroscience 46: 909-923, 1992.
- Boni-Schnetzler M., Hauri C & Zaph J (1999). Leptin is suppressed during
infusion of recombinant human insulin-like growth factor I

- (rhIGF-1) in normal rats. *Diabetologia* **42** 160-166.
- Bonnet M., Gourdou I., Leroux C., Chilliard Y., Djiane J. Leptin expression in the ovine mammary gland: putative sequential involvement of adipose, epithelial, and myoepithelial cells during pregnancy and lactation.
Journal Animal Science 2002. **80**: 723-8.
- Boukhliq, R., Martin, G.B., White, C.L., Blackberry, M.A., and Murray, P.J. (1997)
Role of glucose, fatty acids and protein in regulation of testicular growth and secretion of gonadotropin, prolactin, somatotrophin and insulin in the mature ram.
Reproductive Fertility Development **9**, 515-24.
- Brady, F.H., Smith, M.A., Gold, P.W., Herkenham, M. 1990. Altered expression of hypothalamic neuropeptide mRNAs in food-restricted and food deprived rats.
Neuroendocrinology **52**, 441-447.
- Brady, L.S., Smith, M.A., Gold, P.W., and Herkenham, M (1990). Altered expression of hypothalamic neuropeptide mRNAs in food-restricted and food-deprived rats.
Neuroendocrinology **52**, 441-7
- Brann PW And Mahesh VB (1997) Excitatory amino acids: evidence for a role in the control of reproduction and anterior pituitary hormone secretion.
Endocrine Reviews **18** 678-700
- Breier BH., Gluckman PD, Bass JJ. Plasma concentration of insulin-like growth factor-1 and insulin in the infant calf: ontogeny and influence of altered nutrition.
Journal of Endocrinology **119**:43-50, 1988
- Breier BH., Bass JJ, Butler JH, Gluckman PD. The somatotrophic axis in young steers: influence of nutritional status on pulsatile release of growth hormone and circulating concentrations of insulin-like growth factor-1. *J Endocrinol* **111**: 209-215, 1986
- Breier BH., Gluckman PD, Bass JJ. Influence of nutritional status and

- oestradiol 17 β on plasma growth hormone, insulin-like growth factor-1, and II, and the response to exogenous growth hormone in young steers.
J Endocrinology **118**:243-250, 1988a
- Brito FC Leonardo., Barth D Albert, Rawlings C Norm, Wilde E Randal, Crews H Denny Jr, Mir S Priya, Kastelic P John,
 Effect of nutrition during calfhod and peripubertal period on serum metabolic hormones, gonadotropins and testosterone concentrations, and on sexual development in bulls.
Domestic Animal Endocrinology **33** (2007) 1-18
- Brito LFC., Barth AD, Rawlings NC, Wilde RE, Crews DH Jr, Mir PS and Kastelic JP. (2007). Circulating Metabolic Hormones During the Peripubertal Period and Their Association with Testicular Development in Bulls.
Reproduction Domestic Animals **42**, 502-508 (2007).
- Broad T.E., And Davies A.S., 1980. Pre- and postnatal study of the carcass growth of sheep.
 I. Growth of dissectable fat and its chemical components.
Anim. Prod., **31**, 63-71.
- Broglio F., Arvat E., Benso A., Gottero C., Muccioli G., Papotti M et al., Ghrelin, a natural GH secretagogue produced by the stomach, induces hyperglycemia and reduces insulin secretion in humans.
Journal Clinical Endocrinology and Metabolism 2001, **86**: 5083-5086
- Bronson F.H., Puberty in Female Mice is Not Associated with Increases in Either Body Fat or Leptin (2001)
Endocrinology **142** (11): 4758-4761
- Bronson FH (1985) Mammalian reproduction: an ecological perspective
Biology of Reproduction **32** 1-26
- Bronson FH (1989) Mammalian Reproductive Biology
 The University of Chicago Press, Chicago
- Bronson FH (2000) Puberty and energy reserves: a walk on the wild side

- In Reproduction in Context, pp 15-33
Eds and Wallen and JE Schneider Cambridge MA MIT Press
- Brown, E. G., G. E. Carstens, J. T. Fox, K. O. Curley, T. M. Bryan, L. J. Slay, T. H. Welsh, R. D. Randel, J. W. Holloway, and D. H. Keisler. 2004. Physiological indicators of performance and feed efficiency traits in growing steers and bulls. J. Anim. Sci. 82 (Suppl 2): 54 (Abstr.).
- Bucholtz David Chiesa Alejandra, Pappano William, Nagatani Shoji, Tsukamura Hiroko, Maeda Kei-Ichiro, and Foster Douglas
Regulation of Pulsatile Luteinizing Hormone Secretion by Insulin in the Diabetic Male Lamb
Biology of Reproduction **62**, 1248-1255 (2000)
- Bucholtz DC Vidwans NM, Herbosa CF, Schillo KK, Foster DL.
Metabolic interfaces between growth and reproduction.
V Pulsatile LH secretion is dependent upon glucose availability.
Endocrinology 1996, **137**:601-607
- Bucholtz DC Manning JM, Herbosa CG, Schillo KK, Foster DL. The energetics of LH secretion: a temporally-focused view of sexual maturation. In Program of the Society of Neuroscience 1993, Washington DC 23:349.10 (Abstract)
- Bucholtz DC Chiesa A, Pappano W, Nagatani S, Tanaka T, Tsukamura H, Maeda K-I, Foster DL. Insulin activity modulates LH pulse frequency: the diabetic sheep model. In Program of the 28th Annual Meeting. Society of Neuroscience, 1998, Los Angeles, CA.
- Cai X.J., Widdowson P.S., Harrold J., Wilson S, Buckingham R.E., Arch, J.R.S., Tadayyon M, Clapham J.C., Wilding J, and Williams G (1999). Hypothalamic orexin expression: Modulation by blood glucose and feeding.

- Diabetes **48**, 2132-7.
- Caldeira RM., Belo AT, Santos CC, Vasques MI and Portugal AV (2007b). The effect of long-term feed restriction and over-nutrition on body condition score, blood metabolites and hormonal profiles in ewes. *Small Ruminant Research* **68**, 242-255.
- Camino JE., Tena-Sempere M., Gaytan F., Sanchez-Criado JE., Barreiro ML., Nogueiras R., Casanueva FF., Aguilar E & Dieguez C (2003). Expression of ghrelin in the cyclic and pregnant rat ovary. *Endocrinology* **144** 1594-1602.
- Campbell, R.E., French-Mullen, J.M., Cowley, M.A., Smith, M.S., Grove, K.L., 2001. Hypothalamic circuitry of neuropeptide Y regulation of neuroendocrine function and food intake via the Y5 receptor subtype. *Neuroendocrinology* **74**, 106-119.
- Campfield LA., Smith FJ., Guisez Y., Devos R., Burn P. 1995. Recombinant mouse OB protein: evidence for a peripheral signal linking adiposity and central neural network. *Science* **269**, 546-549.
- Caprio M., Fabbrini E, Isidori AM, Aversa A, Fabbri A 2001. Leptin in reproduction. *TRENDS in Endocrinology & Metabolism* **12** 65-72.
- Caprio S., Tamborlane WV: Effect of puberty on insulin action and secretion. *Semin Reprod Endocrinology* **12**: 90-96, 1994.
- Caprio S., Cline G, Boulware S, Permnente C, Shulman GL, Sherwin RS, Tamborlane WV: Effects of puberty and diabetes on metabolism of insulin-sensitive fuels. *Am J Physiol* **266**:E885-E891, 1994.
- Caprio S., Plewe G, Diamond MP, Simonson DC, Boulward SD, Sherwin RS, Tamborlane WV: Increased insulin secretion in puberty: a compensatory response to reductions in insulin sensitivity. *J Pediatrics* **114**: 963-967, 1989
- Caraty A., Fabre-Nys C, Delaleu B, Locatelli A, Bruneau G, Karsch FJ, Herbison A. Evidence that the mediobasal hypothalamus is the

- primary site of action of estradiol in inducing the preovulatory gonadotropin releasing hormone surge in ewe.
Endocrinology 1998. **139**: 1752-1760.
- Caro JF., Sinha MK., Kolaczynski JW., Zhang PC., and Considine RVC (1996)
Leptin: the tale of an obesity gene.
Diabetes **45**, 1455-1462
- Carro E., Seoane RM, Senaris R, Considine RV, Casanueva FF & Dieguez C (1998). Interaction between leptin and neuropeptide Y on in vivo growth hormone secretion.
Neuroendocrinology **68** 187-191
- Carro E., Senaris R, Considine RV, Casanueva FF & Dieguez C (1997)
Regulation in vivo growth hormone secretion by leptin.
Endocrinology **138** 2203-2206.
- Carro E., Nunez A., Busiguina S., Torres-Aheman L., Circulating insulin-like growth factor I mediates effects of exercise on the brain.
Journal Neuroscience **20**: 2926-2933, 2000.
- Casanueva, F.F., And Dieguez, C. (1999). Neuroendocrine regulation and actions of leptin.
Frontiers of Neuroendocrinology **20**, 317-63.
- Castellano JM., Navarro VM, Fernandez-Fernandez R, Castellano JM, Roa J, Vigo E, Pineda R, et al., Expression of hypothalamic KiSS-1 system and rescue of defective gonadotropin responses by kisspeptin in streptozotocin-induced diabetic male rats.
Diabetes 2006, **55**: 2602-10.
- Cebuji – Kadunc N., Cestnik V., (2005). Circulating Leptin Concentrations in Lipizzan Horses and Jezersko-Solchava Sheep.
Slov Vet Res 2005; **42** (1/2): 11-14.
- Chamorro, S., Della-Zuana, O., Fauchere, J.L., Feletou, M., Galizzi, J.P., and Levens, N. (2002). Appetite suppression based on selective inhibition of NPY receptors. In Journal Obesity Related Metabolism Disorders **26**, 281-98
- Champpell PE., Levine JE. Stimulation of gonadotropin-releasing hormone surges

- by estrogen. Role of hypothalamic progesterone receptors.
Endocrinology 1997. **138**: 5476-5484
- Chappell PE., Levine JE. Progesterone receptor antisense oligonucleotides block LH surge in ovariectomised, estrogen-primed rats. In: Program of the 26th annual meeting of the Society for Neuroscience. 1997. Washington, DC. Abstract 379.377.
- Chappell PE Lee J, Levine JE. Stimulation of gonadotropin-releasing hormone surges by estrogen. Role of cyclic adenosine 3' 5' – monophosphate.
Endocrinology 2000. **141**: 1486-1492.
- Chehab F., Lim M., Correction of the sterility defect in homozygous obese female mice by treatment with the human recombinant leptin.
Nat Genetics 1996 **12**: 318-20.
- Chehab, F.F., Lim, M.E., and Lu, R., (1996). Correction of the sterility defect in homozygous obese female mice by treatment with human recombinant leptin.
Nat Genet **12**, 318-20
- Cheung C.C., Clifton D.K., and Steiner R.A., (1997). Proopiomelanocortin neurons are direct targets for leptin in the hypothalamus.
Endocrinology **138**, 4489-92.
- Cheung CC., Thornton JE., Kuijper JL., Weingle DS., Clifton DK., Steiner RA. Leptin is a metabolic gate for the onset of puberty in the female rat.
Endocrinology 1997. **138**: 855-8.
- Cheung Clement Thornton Janice, Nurani Shafeena, Clifton Donald, Steiner Robert (2001). A Reassessment of Leptin's Role in Triggering the Onset of Puberty in the Rat and Mouse
Neuroendocrinology 2001; **74**:12-21
- Cheung NM Thorton JE, Kuijper JL. Weigle DS, Clifton DK, Steiner RA. Leptin aw a metabolic gate for the onset of puberty in the female rat.
Endocrinology 1997, **138**: 855-8
- Chilliard Y., Delavaud C, Bonnet M. Leptin expression in ruminants.

- Nutritional and physiological regulations in relation with energy metabolism.
Domestic Animal Endocrinology 2005, **29**:3-22.
- Chilliard Y., Bonnet M, Delavaud C, Faulconnier Y, Leroux C, Djiane J and Bocquier F (2001). Leptin in ruminants. Gene expression in adipose tissue and mammary gland, and regulation of plasma concentration.
Domestic Animal Endocrinology **21** 271-295
- Chilliard, Y., Bocquier, F., and Doreau, M (1998). Digestive and metabolic adaptations of ruminants to undernutrition, and consequences on reproduction.
Reproductive Fertility Development **38**, 131-52
- Chopra I.J., And Smith S.R., 1975. Circulating thyroid hormones and thyrotropin in adult patients with protein- calorie malnutrition.
J. Clin. Endocrinol. Metab., **40**, 221-227
- Chopra SE., Sack J, and Fisher DA (1975). 3,3'-5' – Triiodothyronine (Reverse T3) and 3,3,5' Triiodothyronine (T3) in fetal and adult sheep: studies on metabolic clearance rates, production rates, serum binding, and thyroidal content relative to thyroxine.
Endocrinology **97**, 1080-1088.
- Choski N., Jahnke G, Hilaire C, Shelby M., Role of thyroid hormones in human and laboratory animal reproductive health
Birth Defects Research (part B) **68**: 479-491 (2003).
- Chowen JA., Busiguina S & Garcia- Segura LM (1995). Sexual dimorphism and sex steroid modulation of glial fibrillary acidic protein messenger RNA and immunoreactivity levels in the rat hypothalamus.
Neuroscience **69** 519-532.
- Clark, J.T., Kalra, P.S., Crowley, W.R., and Karla S.P., (1984). Neuropeptide Y and human polypeptide stimulate feeding behaviour in rats.
Endocrinology **115**, 427-9
- Clarke, I.J., Horton, R.J., and Doughton, B.W., (1990). Investigation of the mechanism by which insulin-induced hypoglycemia decreases

- luteinizing hormone secretion in ovariectomized ewes.
Endocrinology **127**, 1470-6.
- Claypool LE Wood RI, Ebling FJP and Foster DL (1989) The ontogeny of melatonin secretion in the lamb
Endocrinology **125** 2135-2143
- Claypool LE And Foster DL (1990) Sexual differentiation of the mechanism controlling pulsatile secretion of luteinizing hormone contributes to sex differences in the timing of puberty in sheep
Endocrinology **126** 1206-1215
- Clemmons DR., (1993) IGF binding proteins and their functions.
Molecular Reproduction Revision **35**: 368-374(discussion 374-375).
- Coleman ME., Russell L & Etherton TD (1994). Porcine somatotropin (pST) increases IGF-1 mRNA abundance in liver and subcutaneous adipose tissue but not in skeletal muscle of growing pigs.
Journal of Animal Science **72**, 918-924
- Considine RV (1997) Weight regulation, leptin and growth hormone.
Hormonal Research **48** 116-121
- Considine RV Sinha MK, Heiman ML, Kriauciunas, Stephens TW, Nyce MR et al.,
Serum immunoreactive-leptin concentration in normal-weight and obese humans.
New England Journal of Medicine 1996, **334** 292-295.
- Conzalez-Parra S., Argente J, Chowen JA., van Kleffens M., van Neck JW. Lindenbeigh-Kortleve DJ., Drop SL. Gene expression of the insulin-like growth factor system during postnatal development of the rat pituitary gland.
Journal Neuroendocrinology **13**: 86-93, 2001.
- Copeland KC, Kuehl TJ, Castracane VD. Pubertal endocrinology of the baboon: elevated somatomedin- C/ insulin-like growth factor I at puberty.
J Clin Endocrinol Metab 1982; **55**: 1198-1201.
- Copeland KC., Eichber JW, Parker CR, Bartke A. Puberty in the chimpanzee: somatomedin-C and its relationship to somatic growth and steroid

- hormone concentrations.
 J Clin Endocrinol Metab **60**: 1154-1160, 1985
- Courot M de reviers MM and Pelletierj (1975)
 Variations in pituitary and blood LH during puberty in the male
 lamb: relation to the time of birth.
 Annales de Biologie, Biochemie et Biophysique **15** 509-516
- Crews, D., N. H. Shannon, M. A. Genswein, R. E. Crews, C. M. Johnson,
 and B. A.
 Kendrick. 2003. Genetic parameters for net feed efficiency of
 beef cattle
 measured during postweaning growing versus finishing periods.
 J. Anim. Sci. 81
 (Suppl. 2): 27. (Abstr.).
- Cronin AS Horan TL, Spergel DJ, Brooks AN, Hastings MH and Ebling FJP
 (2004) Neurotrophic effects of BDNF on embryonic
 gonadotrophic- releasing hormone (GnRH) neurons
 European Journal of Neuroscience **19** 338-344
- Cskvari E., Hoyk Z, Cyenes A, Garcia – Ovejero D, Garcia – Segura LM &
 Parducz A (2007). Fluctuation of synapse density in the arcuate
 nucleus during the estrous cycle.
 Neuroscience **144** 1288-1292
- Cummings DE., Purnell JQ., Frayo RS., Schmidova K., Wisse BE., Weigle DS. A
 preprandial rise in plasma ghrelin levels suggests a role in meal
 initiation in humans.
 Diabetes 2001, **50**: 1714-1719.
- Cunningham MJ, Donald KC, Steiner RA 1999. Leptin's actions on reproductive
 axis: perspectives and mechanisms.
 Biology of Reproduction **60** 216-222.
- Cusin I., Rouru J, Visser T, Burger A.G., and Rohner-Jeanrenaud F.
 (2000). Involvement of thyroid hormones in the effect of
 intracerebroventricular leptin infusion on uncoupling protein-3
 expression in rat muscle.

- Diabetes **49**, 1101-5.
- Daftary SS., And Core A., Developemntal changes in hypothalamic insulin-like growth fatcor -1: relationship to gonadotropin-releasing hormone neurons.
Endocrinology (2003) **144** (5): 2034-2045.
- Daftary SS., Core AC., The hypothalamic insulin-like growth factor-1 receptor and its relationship to gonadotropin-releasing hormones neurones during postnatal developepment.
Journal Neuroendocrinology **16**: 160-169, 2004.
- Daftary SS., And Gore AC., IGF-1 in the brain as a regulator of reproductive neuroendocrine function
Exp Biology Medicine **230**: 292-306, 2005.
- Dahl G.E., Evans N.P., Moenter S.M., Karsch F.J., (1994). The thyroid gland is required for reproductive neuroendocrine responses to photoperiod in the ewe.
Endocrinology **135**, 10-15.
- Dahl G.E., Evans N.P., Thurn L.A., Karsch F.J. (1995): Thyrozin is permissive to seasonal transition in reproductive neuroendocrine activity in the ewe.
Biology of Reproduction **52**, 690-696.
- Dali Li., Dianne Mitchell., Jian Luo., Zhengfang YI., Sung-Gook Cho., Jingjing Guo., Xiaoying Li., Guang Ning., Xiushan Wu., and Mingyao Liu. Estrogen regulates KiSS1 gene expression through estrogen receptor α and SP protein complexes
Endocrinology **148(10)**: 4821-4828. 2007.
- Danger, J.M., Tonon, M.C., Jenks, B.G., Saint-Pierre, S., Martel, J.C., Fasolo, A., Breton. B., Quirion, R., Pelletier, G., and Vaudry, H(1990). Neuropeptide Y: localization in the central nervous system and neuroendocrine function.
Fundam Clinical Pharmacology **4**, 307-40.
- Daniel, J.A., Thomas, M.G., Hale, C.S., Simmons, J.M., and Keisler D.H., (2000).
Effect of cerebroventricular infusion of insulin and (or) glucose

- on hypothalamic expression of leptin receptor and pituitary secretion of LH in diet – restricted ewes.
Domestic Animal Endocrinology **18**, 177-85
- Daughaday WH., Rotwein P 1989. Insulin-like growth factor I and II: peptide, messenger ribonucleic acid and gene structures, serum and tissue concentrations.
Endocrinology Revision **10**:68-71.
- Dauncey MJ., (1990). Thyroid hormones and thermogenesis.
Proceedings of the Nutrition Society. **49**, 203-215.
- De Lecea., Kilduff T.S., Peyron C, Gao X, Foye P.E., Danielson P.E., Fukuhara C., Battenberg E.L., Gautvik V.T., Bartlett F.S., Frankei W.N., van den Pol.A., N., Bloom, F.E., Gautvik, K.M., and Sutcliffe, J.G. (1998). The hypocretins:hypothalamus-specific peptides with neuroexcitatory activity.
Proc Natl Acad Sci USA **95**, 322-7.
- De Meyts P., Urso B., Christoffetsen CT., Shymko RM. Mechanism of insulin and IGF-1 receptor activation and signal transduction specificity. Receptor dimer cross-linking, bell-shaped curves, and sustained versus transient signalling.
Ann New York Academy of Science **766**: 388-401. 1995.
- De Roux N., Genin E, Carel J-C, Matsuda F, Chaussain J-L, Milgrom E (2003) Hypogonadotropic hypogonadism due to loss of function of the KiSS-1 derived peptide receptor GPR54.
Proc Natl Acad Sci USA **100**: 10972-10976.
- DeLa Iglesia HO, Blaustein JD, Bittman EL. Estrogen receptor alpha-immunoreactive neurons project to the suprachiasmatic nucleus of the female Syrian hamster.
Journal Neuroendocrinology 1999, **11**: 481-490.
- Delavaud C., Bocquier F, Chilliard Y, Keisler A, Gertler A, and Kann G. 2000. Plasma leptin determination in ruminants: Effect of nutritional status and body fatness on plasma leptin concentration assessed by a specific RIA in sheep. *J Endocrinol.* **165**:519-526
- Delavaud, C., Bocquier, F., Chilliard, Y, Keisler D.H., Gertler, A., and Kann, G

- (2000). Plasma leptin determination in ruminants: effects of nutritional status and body fatness on plasma leptin concentration assessed by a specific RIA in sheep.
Journal of Endocrinology **165**, 519-26
- Demerath EW Towne B, Wisemandle W, Blangero J, Cameron Chumlea and Siervogel RM
Serum leptin concentration, body composition, and gonadal hormones during puberty
International Journal of Obesity (1999) **23**, 678-685
- Demerath EW., Towne B, Wisemandle W, Blangero J, Chumlea CW, Siervogel M.
Serum leptin concentration, body composition, and gonadal hormones during puberty.
Int J Obes Relat Metab Disor 1999. **23**: 678-685
- dePablo F., De La Rosa EJ. The developing CNS: a scenario for the actions of proinsulin, insulin, and insulin-like growth factors.
Trends Neuroscience **18**: 143-150, 1995.
- Dhandapani KM., Brann DW. The role of glutamate and nitric oxide in the reproductive neuroendocrine system.
Biochem Cell Biol 2000. **78**: 165-179.
- Dhillon H., Dunn AM, Esquivel E, Hamernik DL, Wise ME. The estradiol-induced luteinizing hormone surge in the ewe is not associated with increased gonadotropin-releasing hormone messenger ribonucleic acid levels.
Biology of Reproduction 1997, **57**: 107-111
- Di Vito L., Broglio F., Benso A., Gottero C., Prodam F., Papotti M et al., The GH-releasing effect of ghrelin, a natural GH secretagogue, is only blunted by the infusion of exogenous somatostatin in humans.
Clinical Endocrinology (Oxford) 2002, **56**: 643-648
- Diez JJ., Iglesias P. The role of the novel adipocyte-derived hormone adiponectin in human disease.
European Journal of Endocrinology 2003, **148**: 293-300.
- Dobbins, A., Lubbers, L.S., Jackson, G.L., Kuehl, D.E., and Hileman, S.M.

- (2004)
Neuropeptide Y gene expression in male sheep: influence of photoperiod and testosterone.
Neuroendocrinology **79**, 82-9.
- Dornonville dl Lindqvist A., Egecioglu E., Tung YC., Surve V., Ohlsson C.,
C., Jansson JO., Erlanson – Albertsson C., Dickson SL & Hakanson R 2005. Ghrelin treatment reverses the reduction in weight gain and body fat in gastrectomised mice.
Gut **54** 907-913.
- Dube, M.G., Sahu, A., Kalra, P.S., and Kalra S.P. (1992). Neuropeptide Y release is elevated from the microdissected paraventricular nucleus of food-deprived rats: an in vitro study.
Endocrinology **131**, 684-8
- Dubuc PU The development of obesity, hyperinsulinemia and hyperglucemia in ob/ob mice.
Metabolism 1976, **25**: 1567-74
- Ducluzeau PH,
Fletcher LM, Vidal H, Laville M. Tavare JM: Molecular mechanisms of insulin-stimulated glucose uptake in adipocytes.
Diabetes Metab 2002;**28**:85-92
- Duenas M., Luquin S., Chowen JA., Torres-Aleman I., Naftolin F., Garcia-Segura LM. Gonadal hormone regulation of insulin-like growth factor I- like immunoreactivity in hypothalamic astroglia of developing and adult rats.
Neuroendocrinology **59**: 528-538, 1994.
- Duenas M., Torres-Aleman I., Naftolin F., Garcia-Segura LM. Interactions of insulin-like growth factor-I and estradiol signaling pathways on hypothalamic neuronal differentiation.
Neuroscience **74**: 531-539. 1996.
- Duggal PS., Van Der Hoek KH., Milner CR., Ryan NK., Armstrong DT., Magoffin DA and Norman RJ (2000). The in vivo and in vitro effects of exogenous leptin on ovulation in the rat.

- Endocrinology **141**, 1971-1976
- Dumont, Y., Martel, J.C., Fournier, A., St-Pierre, S., and Quirion, R., (1992). Neuropeptide Y and neuropeptide Y subtypes in brain and peripheral tissues. *Progressive Neurobiology* **38**, 125-67
- Dyer CJ., Simmons JM, Matteri RL and Keisler DH (1997a). cDNA cloning and tissue-specific gene expression of ovine leptin, NPY-Y1 receptor and NPY-Y2 receptor. *Domestic Animal Endocrinology* **14** 295-303
- Ebling FJP and Foster DL (1988) Photoperiod requirements for puberty differ from those for the onset of the adult breeding season in the female sheep *Journal of Reproduction and Fertility* **84** 283-293
- Ehrhardt RA., Slepatis RM, Siegal – Willott J, Van Amburgh ME, Bell AW and Boisclair YR (2000). Development of a specific radioimmunoassay to measure physiological changes of circulating leptin in cattle and sheep. *Journal of Endocrinology* **166** 519-529.
- El Majdoubi., M., Sahu, A., Ramaswamy, S., Plant, T.M., 2000. Neuropeptide Y: a hypothalamic brake restraining the onset of puberty in primates. *Proc Natl. Science USA* **97**, 6179-6184.
- Elsasser TH., Rumsey TS, Hammond AC, Fayer R. Influence of parasitism on plasma concentrations of growth hormone, somatomedin C, and somatomedin binding proteins. *J Endocrinol* **116**: 191-200. 1988
- Ensinger U., Rogdakis E., and Faber H., 1981. Plasmaspiegel von Insulin and Trijodthyronin und deren Beziehungen zur schlachtkörperzusammensetzung beim Schwein. *Zuchtungskunde*, **53 (2)**, 113-117
- Erickson GF., Garzo VG., Magoffin DA. Insulin-like growth factor-1 (IGF-1) regulates aromatase activity in human granulosa luteal cells. *Journal Clinical Endocrinology & Metabolism* **69**: 716-724, 1989.

- Escobar – H.F., Escobar del Rey F., and Morreale de Escobar G (1997).
Morreale Thyroid hormones influence serum leptin concentrations in the rat.
Endocrinology **138**, 4485-8.
- Estrada KM., Clay CM., Pompolo S., Smith JT., Clarke IJ. (2006). Elevated KiSS-1 expression in the arcuate nucleus prior to the cyclic preovulatory gonadotropin-releasing hormone/ luteinizing hormone surge in the ewe suggests a stimulatory role for kisspeptin in oestrogen-positive feedback.
Journal Neuroendocrinology **18**: 806-809.
- Etherton TD And Bauman DE (1998). Biology of somatotropin in growth and lactation of domestic animals.
Physiological Reviews **78** 745-761
- Fain J.N., And Bahouth S.W. (1998). Effect of tri-iodothyronine on leptin release and leptin mRNA accumulation in rat adipose tissue.
Biochem Journal **332 (Pt 2)**, 361-6.
- Farooqi IS., Matarese G, Lord GM, Keogh JM, Lawrence E, Agwu C, Sanna V, Jebb SA, Perna F, Fontana S, Lechler RI, DePaoli, AM, O' Rahilly S. (2002). Beneficial effects of leptin on obesity, T cells hyporesponsiveness and neuroendocrine metabolic dysfunction of human congenital leptin deficiency.
Journal Clinical Investigation **110**, 1093-1103
- Fernandez- Galaz MC., Torres – Aleman I, Garcia- Segura LM. Endocrine dependent accumulation of IGF-1 by hypothalamic glia.
Neuroreport **8**: 373-377, 1996.
- Fine J., Villafuete BC, Bai Y, Zhao W, Tagra K, Fleming S, Hauman D, and DiGirolamo M 1998.
Effects of chronic food restriction on circulating levels of adipose regional gene expression of leptin and IGF-1.
International Journal of Obecity **22** S164
- Finn PD., Cunnungham MJ, Pau KY, Spies HG, Clifton DK, Steiner RA. The stimulatory effect of leptin on the neuroendocrine axis of the monkey.

- Endocrinology 1998. **139**:4652-62.
- Finn, P.D., Cunningham, M.J., Pau, K.Y., Spies, H.G., Clifton, D.K., and Steiner, R.A. (1998). The stimulatory effect of leptin on the neuroendocrine reproductive axis of the monkey. *Endocrinology* **139**, 4652-62
- Fishman J., Boyar R.M, & Hellman L (1975). Influence of body weight on estradiol metabolism in young women. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* **41**, 989-991.
- Foster DC Nagatani S, Bucholtz DB, Tsukamura H, Tanaka T and Maeda K-I
Links between nutrition and reproduction: signals, sensors and pathways controlling GnRH secretion. In *Nutrition and Reproduction* Eds W Hansel and S McCann. LSU Press, Baton Rouge
- Foster DL And Nagatani S Physiological Perspectives on Leptin as a Regulator of Reproduction: Role in Timing Puberty *Biology of Reproduction* **60**, 205-215 (1999)
- Foster DL Karsch FJ, Olster DH, Ryan KD and Yellon SM (1986) Determinants of puberty in a seasonal breeder *Recent Progress on Hormone Research* **42** 331-384
- Foster DL And Nagatani Physiological Perspectives on Leptin as a regulator of Reproduction: Role in Timing Puberty (1999). *Biology of Reproduction* **60** 205-215
- Foster DL Ebling FJP, Claypool LE and Wood RI (1989) Photoperiodic control of puberty in sheep. In *Research in Prenatal Medicine Vol IX. Development of Circadian Rhythmicity and Photoperiodism in Mammals*. pp 103-153
Ed SM Reppert, Perinatory Press, Hhaca
- Foster DL Karsch FJ, Olster DH, Ryan KD and Yellon SM (1986) Determinants of puberty in a seaseonal breeder *Recent Progress in Hormone Research* **42** 331-384
- Foster DL And Ryan KD (1979) Endocrine mechanisms governing the transition into adulthood: a marked decrease in the inhibitory

- feedback action of estradiol on tonic secretion of luteinizing hormone in the lamb during puberty
Endocrinology **105** 896-904
- Foster DL (1994) Puberty in Sheep. In the
Physiology of Reproduction Pp 411-451,
 Eds E Knobil and JD Neill
 New York: Raven Press Ltd.
- Foster DL, Olster DH 1985. Effect of restricted nutrition on puberty in the
 lamb: patterns of tonic luteinizing hormone (LH) secretion and
 competency of the LH surge system.
Endocrinology **116** 375-381.
- Franceschini I., Lomet D, Cateau M, Delsol G, Tillet Y, Caraty A. Kisspeptin
 immunoreactive cells of the ovine preoptic area and arcuate
 nucleus co-express estrogen receptor alpha.
Neuroscience Letters 2006; **401**:225-230.
- Friedman JM Halaas JL. Leptin and the regulation of the body weight in
 mammals.
Nature 1998; **395**: 763-70
- Frisch And McArthur JW 1974 Menstrual cycles fatness as a determinant
 of minimum weight for height necessary for their maintenance or
 onset
Science **185** 949-951
- Frisch R.E. (1975). Demographic implications of the biological determinants
 of female fecundity.
Social Biology **22**, 17-22.
- Frisch Rose The right weight: body fat, menarche and fertility
Proceedings of the Nutrition Society (1994), **53**, 113-129
- Frisch Rose Body fat, puberty and fertility
Biological Rev (1984), **59**, 161-188
- Frühbeck G: Intracellular signalling pathways activated by leptin.
Biochem J 2006;**393**(Pt 1):7-20
- Garcia – Segura LM., Chowen JA, Parducz A & Naftolin F (1994). Gonadal

- hormones as promoters of structural synaptic plasticity: cellular mechanisms.
Progress in Neurobiology **44** 279-307.
- Garcia – Segura LM., Duenas M, Busiguina S, Naftolin F & Chowen JA. (1995b).
 Gonadal hormone regulation of neuronal-glia interactions in the
 developing neuroendocrine hypothalamus.
Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology **53** 293-
 298
- Garcia de Yebenes E., Li S, Fournier A, St-Pierre S, and Pelletier G.
 (1995). Regulation of proopiomelanocortin gene expression by
 neuropeptide Y in the rat arcuate nucleus.
Brain Research **674**, 112-6.
- Garcia MC, Lopez M, Alvarez CV, Casanueva F, Tena-Sempere M and
 Dieguez C. (2007). Role of ghrelin in reproduction
Reproduction (2007) **133** 531-540.
- Garcia MR., Amstalden M, Williams SW, Stanko RL, Morrison CD, Keisler
 DH, Nizielski SE, Williams GL
 Serum leptin and its adipose gene expression during pubertal
 development, the estrous cycle, and different seasons in cattle
Journal Animal Sciences 2002. **80**: 2158-2167
- Gehlert, D.R., (1998) Multiple receptors for the pancreatic polypeptide (PP-fold)
 family: physiological implications.
Proc. Soc. Exp. Biol. Medicine **218**, 7-22.
- Gill CJ, Rissman EF 1997. Female sexual behaviour is inhibited by short
 and long term food restriction.
Physiology and Behaviour **61** 387-394.
- Godden P.M.M., And Weeks T.E.C., 1981. Insulin, prolactin and thyroxine
 responses to feeding, and to arginine and insuline injections
 during growth in lambs.
J Agric Sci., Camb, **96**, 353-362.
- Goodyer CG., De Stephano L., Lai WH., Guyda HJ., Posner BI.
 Characterization of insulin-like growth factor receptors in the rat
 anterior pituitary, hypothalamus, and brain.

- Endocrinology **114**: 1187-1195. 1984.
- Gore AC. Gonadotropin-releasing hormone neurons, NMDA receptors, and their regulation by steroid hormones across the reproductive life cycle.
Brain Res Revision 2001. **37**: 235-248
- Gore AC., Roberts JL., Gibson MJ. Mechanisms for the regulation of gonadotropin-releasing hormone gene expression in the developing mouse.
Endocrinology **140**: 2280-2287, 1999.
- Gottsch ML., Cunningham MJ, Smith JT, Popa SM, Acohido BV, Crowley WF, Seminara S, Clifton DK, Steiner RA. A role for kisspeptins in the regulation of gonadotropin secretion in the mouse.
Endocrinology 2004. **145**:4073-4077.
- Grauz – Lalaoui M, Pierroz DD, Englaro P, Sizonenko PC, Blum WF et al.
Gumowski NM Chronic administration of leptin into the lateral ventricle induced sexual maturation in severely food-restricted female rats.
Journal of Neuroendocrinology 1998, **10**: 627-33
- Greives Timothy, Kriegsfeld Lance J, Bentley George E, Tsutsui Kazuyoshi and Demas Gregory E. Recent advances in reproductive neuroendocrinology: a role for RF amide peptides in seasonal reproduction?
Proceedings of the Royal Society B (2008) **275**, 1943-1951
- Grifford B., Risold P.Y., Jacquard C, Colard C, and Fellmann D. (1999). Insulin-induced hypoglycemia increases preprohypocretin (orexin) mRNA in the rat lateral hypothalamic area.
Neuroscience Letters **262**, 77-80.
- Gruaz NM., D'Alleva V., Charnay Y., Skottner A., Ekvam S., Fryklund L., Aubert ML. Effects of constant infusion with insulin-like growth factor-I (IGF-1) to immature female rats on body weight gain, tissue growth and sexual function. Evidence that such treatment does not affect sexual maturation of fertility.
Endocrine **6**: 11-19, 1997.
- Gruaz NM., Arsenijevic Y., Wehrenberg WB., Sizonenko PC., Aubert ML.

- Growth hormone (GH) deprivation induced by passive immunization against rat GH-releasing factor does not disturb the course of sexual maturation and fertility in the female rat.
Endocrinology **135**: 509-519, 1994.
- Gudino Cabera G and Nieto Sampedro M (1999). Estrogen receptor immunoreactivity in Schwann-like brain macroglia.
Journal of Neurobiology **40** 458-470
- H
- Hagan M.M., Rushing P.A., Sxwartz M.W., Yagaloff K.A., Burn P, Woods S.C., and Seeley R.J. (1999). Role of the CNS melanocortin system in the response to overfeeding.
Journal of Neuroscience **19**, 2362-7.
- Hakansson M.L., Brown H, Ghilardi N, Skoda R.C., and Meister B. (1998). Leptin receptor immunoreactivity in chemically defined target neurons of the hypothalamus.
Journal of Neuroscience **18**, 559-72.
- Hall K., Sara VR. Somatomedin levels in childhood, adolescence and in adult life.
Clinics in Endocrinology and Metabolism **13**: 91-112, 1984.
- Hamilton BS., Paglia D, Kwan AY & Deitel M. Increased obese mRNA expression in omental fat cells from massively obese humans.
Nature Medicine 1995 **1** 953-956
- Hamilton GD And Bronson FH (1985) Food restriction and reproductive development in wild house mice
Biology of Reproduction **32** 773-778
- Handelsman DJ, Spaliviero JA, Scott CD, Baxter RC. Hormonal regulation of the peripubertal surge of insulin-like growth factor-I in the rat.
Endocrinology 1987; **120**: 491-496
- Handelsman DJ., Spaliviero JA, Scott CD & Baxter RC (1987). Hormonal regulation of the peripubertal surge of insulin-like growth factor-1 in the rat.
Endocrinology **120** 491-496
- Hanon E. Lincoln GA, fustin JM, Dardente H, Masson-Pevet M. Morgan

- PJ., and Hazlerigg DG.(2008). Ancestral TSH mechanism signals summer in a photoperiodic mammal.
Current Biology **18**, 1147-1152.
- Hardie LJ., Guilhot N & Trayhurn P (1996). Regulation of leptin production in cultured mature white adipocytes.
Hormone and Metabolic Research **28** 685-689
- Harris TG., Robinson JE, Evans NP, Skinner DC, Herbison AE. Gonadotropin-releasing hormone messenger ribonucleic acid expression changes before the onset of the estradiol-induced luteinizing hormone surge in the ewe.
Endocrinology 1998. **139**: 57-64
- Hauseknecht KL, Portocarrero CP 1998. Leptin and its receptors. Regulation of whole body energy homeostasis.
Endocrinology **15** 457-475.
- Havel PJ (2001) Peripheral signals conveying metabolic information to the brain: short –term and long-term regulation of food intake and energy homeostasis.
Exp Biology Medicine (Maywood) **226**, 963-977
- Hayden J.M., Williams J.E., and Collier R.J., Plasma Growth Hormone, Insulin-Like Growth Factor, Insulin, and Thyroid Hormone Association with Body Protein and Fat Accretion in Steers Undergoing Compensatory Gain After Dietary Energy Restriction
J Anim Science 1993. 71: 3327-3338
- Haynes A.C., Jackson B, Overend P, Buckingham R.E., Wilson S., Tadayyon M, and Arch J.R. (1999). Effects of single and chronic intracerebroventricular administration of the orexins on feeding in the rat.
Peptides **20**, 1099-105.
- Hazlerigg David And Loudon Andrew
New Insights into Ancient Seasonal Life Timers
Current Biology **18**, R795-R804, September 9, 2008
- Hazlerigg David And Loudon Andrew New Insights into Ancient Seasonal Life

- Timers
 Current Biology **18**, R795-R804, September 9, 2008
- Heiman ML, Ahima RS, Craft LS, Schomer B, Stephens TW, Flier JS. Leptin inhibition of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in response to stress.
 Endocrinology 1997, **138**: 3859-3863
- Henry B.A., Rao A, Ikenasio B.A., Mountjoy K.G., Tilbrook A, J., and Clarke I.J. (2001b). Differential expression of cocaine-amphetamine-regulated transcript and agouti-related-protein in chronically food-restricted sheep.
 Brain Research **918**, 40-50.
- Henry B.A., Tilbrook A.J., Dunshea F.R., Rao A., Blache D., Martin G.B., and Clarke I.J. (2000). Long-term alterations in adiposity affect the expression of melanin-concentrating hormone and enkephalin but not proopiomelanocortin in the hypothalamus of ovariectomised ewes.
 Endocrinology **141**, 1506-14.
- Henry BA Goding JW, Alexander WS, Tibbrook AJ, Canny BJ, Dunshea F et al., Central administration of leptin to ovariectomized ewes inhibits food intake without affecting the secretion of hormones from the pituitary gland: evidence for a dissociation of effects on appetite and neuroendocrine function.
 Endocrinology 1999, **140**: 1175-82
- Henry BA Goding JW, Tilbrook AJ, Dunshea FR, Blache D, Clarke IJ. Leptin-mediated effects on undernutrition or fasting on luteinizing hormone and growth hormone secretion in ovariectomized ewes depend on the duration of metabolic perturbation.
 Journal of Neuroendocrinology 2004, 16: **244-55**
- Henry BA., Coding JW., Alexander WS, Tilbrook AJ, Canny BJ, Dushea F, Rao A, Mansell A, Clarke IJ 1999. Central administration of leptin to ovariectomized ewes inhibits food intake without affecting the secretion of hormones from pituitary gland:

- evidence for a dissociation of effects on appetite and neuroendocrine function.
Endocrinology **140** 1175-1182.
- Henry, B.A., Gobing, J.W., Alexander, W.S., Tilbrook, A.J., Canny, B.J., Dushea F., Rao, A., Mansell, A., and Clarke, I.J. (1999). Central administration of leptin to ovariectomized ewes inhibits food intake without affecting the secretion of hormones from the pituitary gland: evidence for a dissociation of effects on appetite and neuroendocrine function.
Endocrinology **140**, 1175-82
- Henry, B.A., Goding, J.W., Tilbrook, A.J., Dunshea, F.R., and Clarke, I.J. (2001a). Intracerebroventricular infusion of leptin elevates the secretion of luteinizing hormone without affecting food intake in long-term food-restricted sheep, but increases growth hormone irrespective of bodyweight.
Journal of Endocrinology **168**, 67-77.
- Heosler L.E., Pallota, C.M., Reid, R.L. and Van Vugt, D.A. (1993). Hypoglycemia-induced inhibition of luteinizing hormone secretion in the rhesus monkey is not mediated by endogenous opioid peptides.
Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism **76**, 1280-5
- Herbison AE Multimodal influences of estrogen upon gonadotropin-releasing hormone neurons.
Endocr Rev 1998, **19**:302-330
- Herbosa CG And Foster DL (1995) Prenatal androgens modify the reproductive response to photoperiod in the developing sheep.
Biology of Reproduction **52** 1-7
- Herzog, H., Hort, Y., Schneider, R., and Shine, J. (1995). Seminalplasmin: recent evolution of another member of neuropeptide Y gene family.
Proc Natl Aca Science USA **92**, 594-8
- Hileman S.M., Kuehl D.E., and Jackson G.L., (1998). Photoperiod affects the ability of testosterone to alter proopiomelanocortin mRNA, but

- not luteinizing hormone-releasing hormone mRNA, levels in male sheep.
Journal of Neuroendocrinology **10**, 587-92.
- Hileman S.M., Lubbers L.S., Peterson S.L., Kuehl D.E., Scott C.J., and Jackson, G.L., (1996). Influence of testosterone on LHRH release, LHRH mRNA and propiomelanocortin mRNA in male sheep.
Journal of Neuroendocrinology **8**, 113-21.
- Hileman, S.M., Schillo, K. K., and Hall, J.B., (1993). Effects of acute, intracerebroventricular administration of insulin on serum concentrations of luteinizing hormone, insulin, and glucose in ovariectomized lambs during restricted and ad libitum feed intake.
Biology of Reproduction **48**, 117-24.
- Hiney Jill., Srivastava Vinod, Nyberg Christopher, Ojeda Sergio, and Dees Les. Insulin-Like Growth Factor I of Peripheral Origin Acts Centrally to Accelerate the Initiation of Female Puberty
Endocrinology Vol **137**, No 9
- Hiney JK., Ojeda SR, Dees WL. Insulin-like growth factor I: a possible metabolic signal involved in the regulation of female puberty.
Neuroendocrinology 1991, **54**:420-423
- Hiney JK., Srivastava V, Nyberg CL, Ojeda SR, Dees WL. Insulin-like growth factor I of peripheral origin acts centrally to accelerate the initiation of female puberty.
Endocrinology 1996; **7**: 457-463
- Hiney JK., Srivastava V., Nyberg CL., Ojeda SR., Dees WL. Insulin-like growth factor I of peripheral origin acts centrally to accelerate the initiation of female puberty.
Endocrinology **137**: 3717-3728. 1996.
- Horvath TL., Garcia- Segura LM & Naftolin F (1997). Lack of gonadotropin-positive feedback in the male rat is associated with lack of estrogen-induced synaptic plasticity in the arcuate nucleus.
Neuroendocrinology **65** 136-140
- Hotzel MJ., Walkden-Brown SW, Blackberry MA, Martin GB. The effect of

- nutrition on testicular growth in mature Merino rams involves mechanisms that are independent of changes in GnRH pulse frequency.
J Endocrinology 1995; 147:75-85
- Houseknecht KL., Baile CA, Matteri RL & Spurlock ME (1998). The biology of leptin- a review, *Journal of Animal Science* **76** 1405-1420
- Houseknecht K.L., Portocarrero C.P., Jr., S., Kemenager R, and Spurlock M.E., (2000). Growth hormone regulates leptin gene expression in bovine adipose tissue: correlation with adipose IGF-1 expression. *Journal of Endocrinology* **164**, 51-7.
- Houseknecht KL Portocarrero CP, Ji S, Lemenager R and Spurlock ME. Growth hormone regulates leptin gene expression in bovine adipose tissue: correlation with adipose IGF-1 expression *Journal of Endocrinology* (2000) **164**, 51-57
- Huang K-C., Lin RCY, Kormas N, Lee L-T, Chen C-Y, Gill TP and Caterson ID
 Plasma leptin is associated with insulin resistance independent of age, body mass index, fat mass, lipids, and pubertal development in nondiabetic adolescents
International Journal of Obesity (2004) **28**, 470-475
- Huszenicza Gy., Fodor M, Cacs M, Kulscar M, Dohmen M.J.V., Vamos M, Porklab L, Krgl T, Bartyik J, Lohuins J.A.C.M., Janosi Sz, Szita G. (1999).
 Uterine bacteriology, resumption of cyclic ovarian activity and fertility in postpartum cows kept in large-scale dairy herds.
Reproduction Domestic Animal **34**, 237-245.
- Huszenicza Gy., Nagy P, Juhasz J, Korodi P, Kulscar M, Reiczigel J, Guillaume D, Rudas P, Solti L. (2000). The relationship between thyroid function and expression of seasonal reproductive activity in mares.
Journal of Reproduction Fertility **56** (Supplement), 163-172.
- Huszenicza Gy., Kulscar M, Nikolic J.A., Schmidr J, Korodi P, Katai L, Dieleman S, ribiczei-Scabo P, Rudas (2001): Plasma leptin concentrations

and its interrelation with some blood metabolites, metabolic hormones and the resumption of cyclic ovarian function in postpartum dairy cows supplement with monensin of inert fat in feed.

In: Diskin M.G. (ed): Fertility in the High-producing Dairy Cow. British Society of Animal Science. Edinburgh, Occasional publications, No 26, Vol. 2, 405-409.

- Iqbal J Pompolo S, Sakurai T and Clarke IJ (2001a) Evidence that orexin-containing neurons provide direct input to gonadotropin-releasing hormone neurones in the ovine hypothalamus. *Journal of Neuroendocrinology* **13** 1033-1041
- Iqbal J., Pompolo S, Murakami T, Grouzmann E, Sakurai T, Meister B, Clarke IJ. Immunohistochemical characterization of localization of long term leptin receptor (OB-Rb) in neurochemically defined cells in the ovine hypothalamus. *Brain Research* 2001, **920**:55-64.
- Iqbal J., Henry B.A., Pompolo S, Rao A, and Clarke I.J., (2003). Long-term alteration in bodyweight and food restriction does not affect the gene expression of either preproorexin or prodynorphin in the sheep. *Neuroscience* **118**, 217-26.
- Irwig MS., Fraley GS, Smith JT, Acohido BV, Popa SM, Cunningham MJ, Gottsch ML, Clifton DK, Steiner RA. Kisspeptin activation of gonadotropin releasing hormone neurones and regulation of KiSS-1 mRNA in the male rat. *Neuroendocrinology* 2004, **80**: 264-272.
- Isozaki O., Tsushima T, Miyakawa M, Nozoe Y, Demura H & Seki H (1999) Growth hormone directly inhibits leptin gene expression in visceral fat tissue in fat Zucker rats. *Journal of endocrinology* **161** 511-516
- Jackson LM., Ichimaru T, Jaffe CA, Foster DL. Effects of leptin on LH secretion during developmental and nutritional

- hypogonadotropism.
 In: Proceedings of the 84th Meeting of the Endo Soc San Francisco; 2002
- Jarry H., Leonhardt S, Wuttke W. Preoptic rather than mediobasal hypothalamic amino acid neurotransmitter release regulates GnRH secretion during the estrogen-induced LH surge in the ovariectomized rat.
 Neuroendocrinology 1992, **62**: 479-486.
- Johnson I.O., Hart I.C., Simmons A.O., and Morant S.V.,1985. Pre-pubertal mammogenesis in the sheep: 2. The effects of level of nutrition on the plasma concentration of growth hormone, insulin and prolactin at various ages in female lambs and their relationship with mammary development.
 Anim. Prod., **41**, 333-340.
- Johnston D. J., H. U. Graser, and R. Herd. 2005. Genetic and phenotypic relationships between insulin- like growth factor-I (IGF-I) and net feed intake, fat, and growth traits in Angus beef cattle. Aust. J. Agric. Res. 56: 211-218.
- Jones EJ., Armstrong JD, Harvey RW (1991). Changes in metabolites, metabolic hormones, and luteinizing hormone before puberty in Angus, Braford, Charolais, and Simmental heifers.
 J Anim Sci **69**: 1607-1612.
- Jones EJ., Armstrong JD, Harvey R.W. Changes in metabolites, metabolic hormones, and luteinizing hormone before puberty in Angus, Braford, Charolais, and Simmental heifers.
 J Anim Sciences 1991. **69**: 1607-1615
- Jones JL., Clemmons DR. Insulin-like growth factors and their binding proteins: biological actions.
 Endocrinology Revision **16**: 3-34, 1995.
- Kacsoh B (2000) Endocrine physiology.
 The McGraw-Hill Companies, Inc.:New York

- Kaku M., (1969). Disturbance of sexual function and adipose tissue of obese females.
Sanfujinka No Jissai (Tokyo) **18**, 212-218.
- Kalra S.P., Dube M.G., Sahu A, Phelps C.P., and Kalra P.S. (1991). Neuropeptide Y secretion increases in the paraventricular nucleus in association with increased appetite for food.
Proc Natl Acad Sci USA **88**, 10931-5.
- Kalra SP. Mandatory neuropeptide-steroid signaling for the preovulatory luteinizing hormone-releasing hormone discharge. *Endocr Rev* 1993, **14**:507-538
- Kalra SP., Dube MG, Pu S, Xu B, Horwath TL & Kalra PS. Interacting appetite-regulating pathways in the hypothalamic regulation of body weight.
Endocrine Reviews 1999 **20** 68-100.
- Kaltenbach CC And Dunn TG: *Endocrinology of reproduction*. In “Reproduction in farm animals” (Ed E.S.E. Hafez), pp.85-113, Lea and Febiger, Philadelphia 1980.
- Kamegai J., Tamura H., Shimizu T., Ishi S., Sugihara H., Wakabayashi I. Chronic central infusion of ghrelin increases hypothalamic neuropeptide Y and agouti-related protein mRNA levels and body weight in rats.
Diabetes 2001, **50**: 2438-2443.
- Kanatani, A., Ishihara, A., Asahi, S., Tanaka, T., Ozaki, S., Ihara, M. 1996. Potent neuropeptide Y Y1 receptor antagonist, 1229U91: blockade of neuropeptide Y-induced and physiological food intake.
Endocrinology **130**, 3323-3330.
- Kanematsu T., Irahana M., Miyake T., Shitsukawa K., Aono T. Effects of insulin-like growth factor I on gonadotropin release from the hypothalamic-pituitary axis in vitro.
Acta Endocrinol (Copenh) **125**: 227-233, 1991.
- Karsch FJ., Dahl GE, Hachigian TM, Thrun LA. Involvement of thyroid hormones in seasonal reproduction.
Journal Reproduction Fertility Supplement 1995, **49**: 409-422

- Kato H., Faria TN., Stannard B., Roberts CT Jr., LeRoith D. Role of tyrosine kinase activity in signal transduction by the insulin-like growth factor-I (receptor). Characterization of kinase-deficient IGF-1 receptors and the action of an IGF-1mimetic antibody (alpha IR-3).
Journal Biology Chemistry **268**: 2655-61,1993.
- Kawamura K., Sato N., Fukuda J., Kodama H., Kumargai J., Tamikawa H., Nakamura A., Honda Y., Sato T & Tanaka T (2003). Ghrelin inhibits the development of mouse preimplantation embryos in vitro.
Endocrinology **144** 2623-2633
- Kennedy GC The role of depot fat in the hypothalamic control of food intake in rat.
Proc Roy Soc Lond 1953: **140**: 579-92
- Kern PA,
Di Gregorio GB, Lu T, Rassouli N, Ranganathan G: Adiponectin expression from human adipose tissue: relation to obesity, insulin resistance, and tumor necrosis factor-alpha expression.
Diabetes 2003;**52(7)**:1779-85
- Kershaw Erin E and Jeffrey S Flier (2004) Adipose Tissue as an Endocrine Organ
The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism **89** (6):2548-2556
- Kile JP., Alexander BM, Moss GE, Hallford DM, Nett TM 1991. Gonadotropin-releasing hormone overrides the negative effect of reduced dietary energy on gonadotropin synthesis and secretion in ewes.
Endocrinology **128** 843-849.
- Kim E.M., Grace M.K., Welch C.C., Billington C.J., and Levine A.S. (1999). STZ-induced diabetes decreases and insulin normalizes POMC mRNA in arcuate nucleus and pituitary in rats.
Am Journal of Physiology **276**, R1320-6.

- King, P.J., Widdowson P.S., Doods H, and Williams G. (2000). Regulation of neuropeptide Y release from hypothalamic slices by melanocortin-4 agonists and leptin. *Peptides* **21**, 45-8.
- Knobil E A hypothalamic pulse generator governs mammalian reproduction
News Physiology Science **2** 42-43 (1987)
- Kohsaka A., Watanobe H, Kakizaki Y, Habu S, Suba T. A significant role of leptin in the generation of steroid-induced luteinizing hormone and prolactin surges in female rats.
Biochem Res Commun 1999, **254**: 578-81.
- Kojima M., Hosoda H, Date Y, Nakazato M, Matsuo H & Kangawa K 1999. Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach.
Nature **402** 656-660.
- Kong WM., Martin NM, Smith KL, Gardiner JV, Connoley IP, Stephens DA, Dhillo WS, Ghatei MA, Small CJ and Bloom SR. (2004). Triiodothyronine stimulates food intake via the hypothalamic ventromedial nucleus independent of changes in energy expenditure.
Endocrinology **145**, 5252-5258.
- Koronits M., Bustin SA., Kojima JM., Jordan S., Adam EF., Lowe DD., et al., The expression of the growth hormone secretagogue receptor ligand ghrelin in normal and abnormal human pituitary and other neuroendocrine tumors.
Journal Clinical Endocrinology and Metabolism 2001, **86**: 881-887
- Koutkia Polyxeni Canavan Bridget, Johnson Michael, DePaoli Alex, and Grinspoon Steven
Characterization of leptin pulse dynamics and relationship to fat mass, growth hormone, cortisol, and insulin
Am J Physiol Endocrinol Metab **285**: E372-E379, 2003.
- Krajewski SJ., Abel TW, Voytko ML, Rance NE. Ovarian steroids differentially

- modulate the gene expression of gonadotropin-releasing hormone neuronal subtypes in the ovariectomised cynomologus monkey. *Journal Clinical Endocrinology & Metabolism* 2003. **88**:655-662.
- Krieg Richard., Santos Fernando, Chan James
Growth hormone, insulin-like growth factor and the kidney
Kindeg International, Vol **48** (1995), pp.321-336
- Kristensen P., Judge M.E., Thim L, Ribel U, Christjansen K.N., Wulff B.S., Clausen J.T., Jensen P.B., Madsen, O.D., Vrang N, Larsen P.J., and Hastrup, S. (1998).
Hypothalamic CART is a new anorectic peptide regulated by leptin.
Nature **393**, 72-6.
- Kronenberg H., Professor of Medicine, Medical Doctor, Harvard Medical School, Chief, Endocrine Unit, Massachusetts General Hospital, Boston, Massachusetts
Williams Textbook of Endocrinology 11th edition
Saunders 2008
- Kuru M., Ueta Y, Serino R, Nakazato M, Yamamoto Y, Shibuya I and Yamashita H. (2000). Centrally administered orexin/ hyponectin activates HPA axis in rats.
Neuroreport **11**, 1977-80.
- Labrethon M.C., Vandersmissen, E. Gerard A, Parent A.S. and Bourguignon J.P., (2000). Cocaine and amphetamine- regulated- transcript peptide mediation of leptin stimulatory effect on the rat gonadotropin-releasing hormone pulse generator in vitro.
Journal of Neuroendocrinology **12**, 383-5.
- Lackey BR., Gray SL., Henricks DM. The insulin-like growth factor (IGF) system and gonadotropin regulation: actions and interactions.
Cytocine Growth Factor Revision **10**: 201-217, 1999.
- Lambert P.D., Couceyro PR., McGirr, K.M., Dall Vechia S.E., Smith Y., and Kuhar M.J., (1998). CART peptides in the central control of feeding and interactions with neuropeptide Y.
Synapse **29**, 293-8.

- Lania A., Gangi E., Romoli R., Losa M., Travaglini P., Meringolo D., Ambrosi B., Faglia G., Beck-Pecoz P., Spada A. (2002). Impaired estrogen-induced negative feedback on gonadotropin secretion in patients with gonadotropin-secreting and nonfunctioning pituitary adenomas.
European Journal Clinical Investigation **32**: 335-340
- LaPaglia N., Steiner J, KIRSTEINS L, Emanuele M & Emanuele N (1998). Leptin alters the response of the growth hormone releasing factor growth hormone insulin-like growth factor-I axis to fasting.
Journal of Endocrinology **159** 79-83
- Lechan R.M., And Fekete C (2005). Role of thyroid hormone deiodination in the hypothalamus.
Thyroid **15**, 383-397
- Lee DK., Nguyen T, O'Neill GP, Cheung P, Liu Y, Howard AD, Coulombe N, Tan CP, Tang-Nguyen AT, George SR et al.,
Discovery of a receptor related to the galanin receptors.
FEBS Lett 1999; **446**: 103-107.
- Lee HM., Wang G., Englander EW., Kojima M, Greeley GH Jr. Ghrelin, a new gastrointestinal peptide that stimulates insulin secretion: enteric distribution, ontogeny, influence of endocrine, and dietary manipulations.
Endocrinology 2002, **143**: 185-190
- Lee JH., Miele ME, Hicks DJ, Phillips KK, Trent JM, Weissman BE, Welch DR. KiSS-1, a novel human malignant melanoma metastasis-suppressor gene.
J Natl Cancer Institute 1996; **88**:1731-1737
- Lee WH., Javedan S., Bondy CA. Coordinate expression of insulin-like growth factor system components by neurons and neuroglia during retinal and cerebellar development.
Journal of Neuroscience **12**: 4737-4744, 1992.
- Lenzen S., (1978). Dose- response studies on the inhibitory effect of thyroid hormones on insulin secretion in the rat.
Metab., **27**, 81-88

- Leon HV., Hernandez- Ceron J, Keisler DH, and Gutierrez
J Anim Sci 2004. **82**:445-451
- Leslie RA Sanders SJK, Anderson S, Schuhlers S, Horan TL and Ebling FJP
(2001) Appositions between CART and GnRH immuno-reactive
neurons in the hypothalamus.
Neuroscience Letters **314** 111-114
- Leupen, S.M., Besecke, L.M., Levine, JE, 1997. Neuropeptide Y Y1 –receptor
stimulation is required for physiological amplification of pre-
ovulatory luteinizing hormone surges.
Endocrinology **138**, 2735-2739.
- Levine JE New concepts of the neuroendocrine regulation of gonadotropin
surges in rats.
Biology of Reproduction 1997, **56**: 293-302.
- Li C Chen PL and Smith MS (1999). Morphological evidence for
direct interaction between arcuate nucleus neuropeptide Y (NPY)
neurons and gonadotropin-releasing hormone neurons and the
possible involvement NPYY1 receptors.
Endocrinology **140**, 5382-5390
- Li, C., Chen P., Smith M.S., 1999. Morphological evidence for direct
interaction between arcuate nucleus neuropeptide Y (NPY)
neurons and gonadotropin-releasing hormone neurons and the
possible involvement of NPY Y1 receptors.
Endocrinology **140**, 5382-5390
- Livingstone C Lyall H, Gould GW. Hypothalamic GLUT4 expression: a glucose
and insulin –sensing mechanism?
Molecular and Cellular Endocrinology 1997, **138**:3395-3401
- Lonnqvist F., Arner P, Nordfors L & Schalling M. Overexpression of the obese
(ob) gene in adipose tissue of human obese subjects.
Nature Medicine 1995 **1** 950-953
- Lopez M., Seoane L, Garcia M.C., Lago F, Casanueva F.F., Senaris R, and
Dieguez C. (2000). Leptin regulation of prepro-orexin receptor
mRNA levels in the hypothalamus.
Biochem Biophys Res Commun **269**, 41-5.

- Lowe J.E., Foote R.H., Baldwin B.H., Hillman R.B. Kallfelz F.A. (1987). Reproductive patterns in cyclic and pregnant thyroidectomized mares. *Journal Reproduction Fertility*, **35** (Supplement), 281-288.
- Lowe WL., Jr. Lasky SR., LeRoith D., Roberts CT Jr., Distribution and regulation of rat insulin-like growth factor I messenger ribonucleic acids encoding carboxyterminal E-peptides: evidence for differential processing and regulation in liver. *Moleculiar endocrinology* **2**: 528-535, 1988.
- Luna AM., Wilson DM, Wibbelsman CJ, Brown RC, Nagashima RJ, Hintz RL, Rosenfeld RG. Somatomedins in adolescence: a cross-sectional study of the effect of puberty on plasma insulin-like growth factor-I and II levels. *J Clin Endocrinol Metab* **57**: 268-271, 1983
- Maciel MN., Zieba DA, Amstalden M, Keisler DH, Neves J, Williams GL. Chronic administration of recombinant ovine leptin in growing beef heifers: effects on secretion of LH, metabolic hormones, and timing of puberty. *J Anim Sci* 2004; **82**: 2930-6
- Maeda K-I., Cagampang FRA, Coen CW, Tsukamura H. Involvement of the catecholaminergic input to the paraventricular nucleus and of corticotropin-releasing hormone secretion in adult male rhesus monkey. *Endocrinology* 1993, **132**: 2427-2437.
- Maffei M, Halaas J, Ravussin E, Pratley RE, LeeGH, Zhang Y, Fei H, Kim S, Larrone R, Ranganthan S, Kern PA, Friedman JM 1995. Leptin levels in human and rodent: measurement of plasma leptin and ob RNA in obese and weight-reduced subjects. *Nature Medicine* **1** 1155-1161.
- Maffei M., Halaas J, Ravussin E, Pratley RE, Lee GH, Zhang Y et al.. Leptin levels in human and rodent: measurement of plasma leptin and ob RNA in obese and weight-reduced subjects. *Nature Medicine* 1995 **1** 1155-1161

- Magni NM, Motta M, Martini L 2000. Leptin: a possible link between food intake, energy expenditure and reproductive function. *Regulatory Peptides* **92** 51-56.
- Mahesh VB., Brann DW. Neuroendocrine mechanisms underlying the control of gonadotropin secretion by steroids. *Steroids* 1998. **63**: 252-256
- Mann DR And Fraser HM (1996) The neonatal period a critical interval in male primate development. *Journal of Endocrinology* **149** 191-197
- Mantzoros CS., Flier JS & Rogol AD. A longitudinal assessment of hormonal and physical alterations during normal puberty in boys. V. Rising leptin levels may signal the onset of puberty. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 1997 **82** 1066-1070.
- Maor Gila., Segev Yael, and Philip Moshe Testosterone Stimulates Insulin-Like Growth Factor-1 and Insulin-Like Growth Factor-1-Receptor Gene Expression in the Mandibular Condyle – A Model of Endochondral Ossification *Endocrinology* (1999) Vol **140** No 4
- Marcella Gamba and Francois P. Pralong. Control of GnRH neuronal activity by metabolic factors. The Role of leptin and insulin. *Molecular and Cellular Endocrinology* **254-255** (2006) 133-139
- Margerit S., Gazzola C, Pegg GG., Hill RA. Leptin: a review of its periphery actions and interactions. *Int Journal Obesity Relat Metabolism Disorders* 2002, **26**: 1407-33.
- Marie, M., Findlay, P.A., Thomas, L., Adam, C.L., (2001). Daily patterns of plasma leptin in sheep. Effects of photoperiod and food intake. *Journal of Endocrinology* **170**, 277-86.
- Marks JL., Porte D Jr., Baskin DG. Localization of type I insulin-like growth factor receptor messenger mRNA in the adult rat brain by in situ hybridization. *Molecular Endocrinology* **5**: 1158-1168, 1991.

- Marks, J.L., Porte, D., Jr., Stahl, W.L., and Baskin D.G. (1990). Localization of insulin receptor mRNA in the rat brain by in situ hybridization. *Endocrinology* **127**, 3234-6.
- Martin GB., Walkden- Brown SW. Nutritional influences on reproduction in mature male sheep and goats. *J Reprod Fertil Suppl* 1995; 49:437-49
- Martini AC., Fernandez-Fernandez R., Tovar S., Navarro VM., Vigo E., Vazquez MJ., Davies JS., Thompson NM., Aguilar E., Pinilla L., Wells T., Dieguez C & Tena-Sempere M (2006). Comparative analysis of the effects of ghrelin and unacylated ghrelin on luteinizing hormone secretion in male rats. *Endocrinology* **147**, 2374-2382.
- Masuzaki H., Ogawa Y, Isse N, Satoh N, Okazaki T, Shigemoto M et al., Human Obese gene expression- adipocyte-specific expression and regional differences in the adipose tissue. *Diabetes* 1995 **44** 855-858.
- Mather J., Cunningham , Donald K Clifton and Robert A. Steiner. Leptin's actions on the reproductive Axis: Perspectives and Mechanisms. *Biology of Reproduction* **60**, 216-222 (1999).
- Matkovic Velimir Ilich Jasminka, Skugor Mario, Badenhop Nancy, Goel Prem, Clairmont Albert, Klisovic Dino, Nahhas Ramzi and Landoll John
Leptin is Inversely Related to Age at Menarche in Human Females
Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism vol **82**, No.10
- Matsumoto A And Arai Y (1976). Developmental changes in synaptic formation in the hypothalamic arcuate nucleus of female rats. *Cell and Tissue Research* **169** 143-156
- Mauras N., Rogol AD, Haymond MW & Veldhuis JD (1996) Sex steroids, growth hormone, insulin-like growth factor-1: neuroendocrine and metabolic regulation in puberty. *Hormone Research* **45** 74-80
- Mc Bee MJ., Knight RL, Benavidez LM, Abercrombie LD, and Hallford DM

- Metabolic Hormone Profiles in Rambouillet lambs during the preweaning period
 Proceedings, Western Section, American Society of Animal Science
 Vol **57**, 2006
- McCann J.P., Bergman EN, and Beermann DH (1992). Dynamic and static phases of severe dietary obesity in sheep: food intakes, endocrinology and carcass and organ chemical-composition. *Journal of Nutrition* **122**, 496-505.
- McCann S.M., Karanth S, Mastronardi CA, Dees WL, Childs G, Miller B, Sower S, Yu WH. Hypothalamic control of gonadotropin secretion. *Prog Brain Res* 2002, **141**: 151-164.
- McDonald J.K., In *Veterinary Endocrinology and Reproduction* Blackwell Publishing
- McDonald J.K., In *Veterinary Endocrinology and Reproduction*
 Ed LE McDonald Philadelphia 1980
- McDonald, J.K., Lumpkin M.D., and DePaolo L.V. (1989). Neuropeptide-Y suppresses pulsatile secretion of luteinizing hormone in ovariectomized rats: possible site of action. *Endocrinology* **125**, 186-91.
- McShane T.M., May T, Miner J.K., and Keisler D.H. (1992). Central actions of neuropeptide-Y may provide a neuromodulatory link between nutrition and reproduction. *Biology of Reproduction* **46**, 1151-7.
- McShane T.M., Petersen S.L., McCrone S, and Keisler D.H. (1993). Influence of food restriction on neuropeptide Y, pro-opiomelanocortin, and luteinizing hormone-releasing hormone gene expression in sheep hypothalami. *Biology of Reproduction* **49**, 831-9.
- Mercer, J.G., Hoggard N, Williams L.M., Lawrence C.B., Hannah L.T., and Trayhurn P. (1996). Localization of leptin receptor mRNA and the long form splice variant (Ob-Rb) in mouse hypothalamus and adjacent brain regions by in situ hybridization.

- FEBS Letters **387**, 113-6.
- Merchant M., And Riach DJ (2002). The effect of plane of nutrition and shearing of the pattern o the moult in Scottish Casmere goats. *Animal Science* **74**, 177-188.
- Merimee T.J., And Fineberg E.S., 1976. Starvation-induced alterations of circulating thyroid hormone concentrations in man. *Metab.*, **25**, 79-83.
- Merimee TJ., Zapf J, Hewlett B, Cavalli-Sforza, L.L. Insulin-like growth factors in pygmics: the role of puberty in determing final stature. *The New England Journal of Medicine*: **316**:906-911, 1987
- Merimee TJ., Burgess JA, Rabinowitz D: Influence of growth hormone on insulin secretion. *Diabetes* **16**: 478-482, 1967
- Mesiano S., Hart CS, Heyer BW, Kaplan SL & Grumbach MM 1991
Hormone ontogeny in the ovine fetus XXVI. A sex difference in the effects of castration on the hypothalamo-pituitary gonadotropin unit in the ovine fetus. *Endocrinology* **129** 3073–3079.
- Messenger S Chatzidaki EF, Ma D, Henrick AG, Zahn D, Dixon J, Thresher RR, Malinge I, Lamet D, Courlton MBL
College WH, Caraty A and Aparicio SAJR (2005). Kisspeptin directly stimulates gonadotropin-releasing hormone release via the G-protein-coupled receptor 54. *PNAS* **102** 1761-1766
- Michels KM., Saaverda JM., Differential developoment of insulin-like growth factor-I binding in the hypothalamus of hamster and rat. *Brain Revision Brain Res* **62**: 215-221, 1991.
- Miller BH And Gore AC (2001). Alterations in hypothalamic insulin-like growth factor-1 and its association with gonadotropin releasing hormone neurones during reproductive development and ageing. *Journal of Neurobiology* **13** 967-975.
- Miller BH., Core AC., Alterations in hypothalamic insulin-like growth factor-I and its associations with gonadotropin-releasing hormone neurones during reproductive development and aging.

- Journal Neuroendocrinology **13**: 728-736, 2001.
- Miller D.W., Blache D., and Martin G.B. (1995). The role of intracerebral insulin in the effect of nutrition on gonadotropin secretion in mature male sheep.
Journal of Endocrinology **147**, 321-9.
- Miller D.W., Filndlay P.A., Morrison M.A., Raver N, and Adam C.L. (2002). Seasonal and dose-dependent effects of intracerebroventricular leptin on lh secretion and appetite in sheep.
Journal of Endocrinology **175**, 395-404.
- Miller DW Blache D, Martin G. The role of intracerebral insulin in the effect of nutrition on gonadotrophin secretion in mature male sheep.
Journal of Endocrinology 1995, **147**: 321-329
- Miller DW, Blache D, Martin GB. The role of intracerebral insulin in the effect of nutrition on gonadotropin secretion in mature male sheep.
Journal Endocrinology 1995, **147**: 321-329.
- Miller DW., Blache D, Boukhliq R, Curlewis ID, Martin GB. Central metabolic messengers and the affects of nutrition on gonadotropin secretion in sheep.
J Reprod Fertil 1998; 112:347-56
- Miller DW., Blache D, Boukhiq R, Curlewis JD, Martin GB. Central metabolic messengers and the effects of diet on gonadotropin secretion in sheep.
Journal Reproduction Fertility 1998, **112**:347-356
- Miller DW., Findlay PA, Morrison MA, Raver N, Adam CL. Seasonal and dose-dependent effects of intracerebroventricular leptin on LH secretion and appepite in sheep.
Journal Endocrinology 2002. **175**: 395-404.
- Miller, D.W., Blache D., and Martin, G.B., (1995). The role of intracerebral insulin in the effect of nutrition on gonadotropin secretion in mature male sheep.
Journal of Endocrinology **147**, 321-9.
- Miner J.L., Della-Fera M.A., and Paterson J.A., (1990). Blockade of satiety

- factors by central injection of neuropeptide Y in sheep.
Journal of Animal Science **68**, 3805-11.
- Mizuno T.M., Kleopoulos S.P., Bergen H.T., Roberts J.L., Priest C.A., and Mobbs, C.V. (1998).
Hypothalamic pro-opiomelanocortin mRNA is reduced by fasting and in ob/ob and db/db mice, but is stimulated by leptin.
Diabetes **47**, 294-7.
- Mizuno T.M., And Mobbs, C.V., (1999). Hypothalamic agouti-related protein messenger ribonucleic acid is inhibited by leptin and stimulated by fasting.
Endocrinology **140**, 814-7.
- Moenter S.M., Woodfill C.J.I., Karsch F.J. (1991). Role of the thyroid gland in seasonal suppression of reproductive neuroendocrinology activity in ewes.
Endocrinology **128**, 1337-1344.
- Mong JA & Blustein T (2006). Estradiol modulation of astrocytic form and function: implications for hormonal control of synaptic communication.
Neuroscience **138** 967-975
- Mong JA & McCarthy MM (1999). Steroid-induced developmental plasticity in hypothalamic astrocytes: implications for synaptic patterning.
Journal of Neurobiology **40** 602-619
- Moran A., Jacobs DR, Steinberger J, Hong C-P, Prineas R, Luepker R, Sinaiko AR. 1999. Insulin resistance during puberty: results from clamp studies in 357 children.
Diabetes **48**: 2039-2044.
- Morley, J.E., Hernandez E.N., and Flood J.F. (1987). Neuropeptide Y increases food intake in mice. Am Journal of Physiology **253**, R516-22.
- Morrison C.D., Daniel J.A., Holmberg B.J., Djiane J, Raver N, Gatler A., and Keisler D.H. (2001). Central infusion of leptin into well-fed and undernourished ewe lambs: effects on feed intake and serum concentrations of growth hormone and luteinizing hormone.

- Journal of Endocrinology **168**, 317-24.
- Morrison CD Wood R, McFadin EL, Whitley NC, Keisler DH. Effect on intravenous infusion of recombinant ovine leptin on feed intake and serum concentrations of GH, LH, insulin, IGF-I, cortisol. And thyroxine in growing prepubertal ewe lambs. Domestic Animal Endocrinology 2002. **22**: 103-12
- Morrison CD., Daniel JA, Holmberg BJ, Dijane J, Raver N, Getler A, Keisler DH 2001. Central infusion of leptin into well-fed and undernourished ewe lambs: effects on feed intake and serum concentrations of growth hormone and luteinizing hormone. Journal of Endocrinology **168** 317-324.
- Mountjoy K.G., And Wong, J. (1997). Obesity, diabetes and functions for pro-opiomelanocortin-derived peptides. Molecular and Cellular Endocrinology **128**, 171-7.
- Mounzih K., Chehab FF. Leptin treatment resues the sterility of genetically obese ob/ob males. Endocrinology 1997, **138**: 1190-3.
- Muller AF., Lamberts SW., Janssen JA., Hofland LJ., Koetsveldpv., Bidlingmaier M et al., Ghrelin drives GH secretion during fasting in man. European Journal Endocrinology 2002, **146**: 203-207
- Murphy LJ., Bell GL., Duckworth ML., Friesen HG. Identification, characterization, and regulation of a rat complementary deoxyribonucleic acid which encodes insulin-like growth factor-1. Endocrinology **121**: 684-691, 1987.
- Murphy LJ., Bell GI., Friesen HG., Growth hormone stimulates sequential induction of c-myc and insulin-like growth factor-1 expression in vivo. Endocrinology **120**: 1806-1812, 1987.
- Nagatani S., Zeng Y, Keisler D.H., Foster D.L., and Jaffe C.A. (2000). Leptin regulates pulsatile luteinizing hormone and growth hormone secretion in the sheep.

- Endocrinology **141**, 3965-75
- Nagatani S., Guthikonda P, Thomspon RC, Tsukamura H, Maeda KI, Foster DL. Evidence for GnRH regulation by leptin: leptin administration prevents reduced pulsatile LH secretion during fasting. Neuroendocrinology 1998, **67**:370-6.
- Nagatani, S., Guthikonda, P., Thompson, R.C., Tsukamura, H., Maeda, K.L., and Foster D.L. (1998). Evidence for GnRH regulation by leptin: leptin administration prevents reduced pulsatile LH secretion during fasting. Neuroendocrinology **67**, 370-6
- Nakao N., Ono H, Yamamura T, Anraku T, Takagi T, Higashi K, Yasuo S, Katou T, Kageyama S, Uno Y., et al., (2008). Thyrotropin in the pars tuberallis triggers photoperiodic response. Nature **152**, 317-322.
- Navarro VM., Castellano JM, Fernandez-Fernandez R, Tovar S, Roa J, Mayen A, Barreiro ML, Casanueva FF, Aguilar E, Dieguez C, Pinilla L, Tena-Sempere M. Effects of KiSS-1 peptide, the natural ligand of GPR54, on follicle-stimulating hormone secretion in the rat. Endocrinology 2005, **146**: 1689-1697.
- Navvaro VM., Castellano JM, Fernandez- Fernandez R, Barreiro ML, Roa J, Sanchez-Criado JE, Aguilar E, Dieguez C, Pinilla L, Tena – Sempere M (2004). Developmental and hormonally messenger ribonucleic acid expression of KiSS-1 and its putative receptor, GPR54, in rat hypothalamus and potent luteinizing hormone-releasing activity of KiSS-1 peptide. Endocrinology **145**: 4565-4574
- Nicholls T.J., Follett B.K., Goldsmith AR., and Pearson H (1988). Possible homologies between photorefractoriness in sheep and birds- the effect of thyroidectomy on the length of the ewes breeding season. Reproduction Nutrition Dev, **28**, 375-385
- Nicholls T.J., Goldsmith A.R., Dawson A. (1988): Photorefractoriness in birds

- and comparison with mammals.
Physiology Revision, **68**, 133-176.
- Nicholls TJ., Follett BK, Goldsmith AR, Pearson H (1998). Possible homologies between photorefractoriness in sheep and birds: the effect of thyroidectomy on the length of the ewe's breeding season.
Reprod Nutr Dev **28**: 375-385
- Nicholls TJ., Follett BK, Goldsmith AR, and Pearson H (1988b). Possible homologies between photorefractoriness in sheep and birds: the effect of thyroidectomy on the length of the ewe's breeding season.
Reproduction Nutrition Development **28**, 375-385.
- Nielsen JH Effects of growth hormone, prolactin, and placental lactogen on insulin content and release, and deoxyribonucleic acid synthesis in cultured pancreatic islets. *Endocrinology* **110**: 606, 1982.
- Nimrod A., & Ryan K.J. (1975). Aromatization of androgens by human abdominal and breast fat tissue.
Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism **40**, 367-372
- Ocariz Leyva Lucciola J, and Puzzar Serum Thyroid Hormone Concentrations During Growth and Puberty in Carora Dairy Heifers of Venezuela *Theriogenology* **48**: 19-31, 1997
- Ojeda SR., Urbanski HF. Puberty in the rat. In: Knobil E, Neil JD (eds), *The Physiology of Reproduction*. New York: Raven Press. 1994, 362-409
- Ojeda SR., Terasawa E (2002). Neuroendocrine regulation of puberty. In: Pfaff D, Arnold A, Etgen A, Fahrbach S, Moss R, Rubin R, eds. *Hormones, brain and behaviour*. Vol **4**, New York: Elsevier, 589-659
- Ollmann M.M., Wilson B.D., Yang Y.K., Kerns J.A., Chen Y, Gantz I, and Barsh G.S., (1997). Antagonism of central melanocortin receptors in vitro and in vivo by agouti-related protein.
Science **278**, 135-8.
- Olson BR., Scott DC, Wetsel WC, Elliot SJ, Tomic M, Stojilkovic S, et al.

- Effects of insulin-like growth factors I and II and insulin on the immortalized hypothalamic GTI-7 cell line.
Neuroendocrinology 1995; **62**:155-65
- Olster DH., Foster DL Control of gonadotropin secretion in the male during puberty: a decrease in response to steroid inhibitory feedback in the absence of an increase in steroid-independent drive in the sheep.
Endocrinology. 1986 Jun;118(6):2225-34.
- Olster DH., Foster DL. Control of gonadotropin secretion in the male during puberty: a decrease in response to steroid inhibitory feedback in the absence of an increase in steroid-independent drive in the sheep.
Endocrinology 1986; **118**: 2225-2334.
- Pan W., Kastin AJ., Interactions of IGF-1 with the blood-brain barrier in vivo and in situ.
Neuroendocrinology **72**: 171-178, 2000.
- Parkinson TJ., And Follett BK (1994). Effect of thyroidectomy upon seasonality in rams.
Journal of Reproduction and Fertility **101**. 51-58.
- Parkinson TJ., Douthwaite JA and Follett BK (1995). Responses of prepubertal and mature rams to thyroidectomy.
Journal of Reproduction and Fertility **104**, 51-56.
- Peeters R., Buys N, Pauwels T, Kuhn ER, Decuyper E, Siau O and Van Isterdael J. (1989). Relationship between the thyroidal and gonadal axes during the estrus cycle of ewes of different breeds and ages.
Reproduction Nutrition Development **29**, 237-245.
- Peino R., Baldelli R., Rodriguez-Garcia J., Rodriguez-Segade S., Kojima M., Kangawa K., et al., Ghrelin-induced growth hormone secretion in humans.
European Journal Endocrinology 2000, **143**: R11-R14
- Pelletier G., Labrie C, Martel C, Li S, Labrie F. Role of extra-ovarian oestrogens in the regulation of gonadotropin releasing hormone

- mRNA expression in the rat brain.
Journal Neuroendocrinology 2001. **13**: 678-682.
- Perei E & Killinger DW. (1979). The interconversion and aromatization of androgens by human adipose tissue.
Journal of Steroid Biochemistry **10**, 623-626.
- Perez J., Naftolin F & Garcia – Segura LM (1990). Sexual differentiation of synaptic connectivity and neuronal plasma membrane in the arcuate nucleus of the rat hypothalamus.
Brain Research **527** 116-122.
- Perks CM., Denning-Kendall PA., Gilmour RS., Watches DC. Localization of messenger ribonucleic acids for insulin-like growth factor I (IGF-1), IGF-II, and the type 1 IGF receptor in the ovine ovary throughout the estrous cycle.
Endocrinology **136**: 5266-5273, 1995.
- Petersen SL., McCrone S, Shores S. Localized changes in LHRH mRNA levels as cellular correlates of the positive feedback effects of estrogen on LHRH neurons.
Am Zool 1993, **33**:255-265.
- Peterson SL., Cheuk C, Hartman RD, Barraclough CA. Medial preoptic microimplants of the antiestrogen, Keoxifene, affect luteinizing hormone-releasing hormone mRNA levels, median eminence luteinizing hormone-releasing hormone concentrations and luteinizing hormone release in ovariectomised, estrogen –treated rats.
Neuroendocrinology 1989: **1**: 279-289.
- Phillip M., Palese T, Hernandez E.R., Roberts C.T. Jr., LeRoith D, Kowarski A.A. (1992) Effect of Testosterone on Insulin-like growth factor-I (IGF-1) and IGF-1 Receptor gene expression in the hypothysectomised rat
Endocrinology vol **130** No 5
- Pierzchala K., Van loon GR 1990. Plasma native and peptidase-derivable Met-enkephalin responses to restrain stress in rats. Adaptation to repeated restraint.

- Journal of Clinical Investigation **85** 861-873
- Pinkney J Williams G Ghrelin gets hungry.
Lancet 2002, **359**: 1360-1361
- Piva F., Limonta P, Dondi D, Pompinelli F, Martini L 1995. Effects of steroids on the brain opioid system.
Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology **53** 343-348
- Plant TM (1985) A study of the role of the postnatal testes in determining the ontogeny of gonadotropin secretion in the male rhesus monkey
Endocrinology **116** 1341-1350
- Plant TM (2001) Neurobiological bases underlying the control of the onset of puberty in the rhesus monkey: a representative higher primate.
Frontiers in Neuroendocrinology **22** 107-139
- Pohl CR De Ridder CM and Plant TM (1995). Conadal and nongonadal mechanisms contribute to the prepubertal hiatus in gonadotropin secretion in the female rhesus monkey
Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism **80** 2094-2101
- Pompolo S., Pereira A, Estrada KM, Clarke IJ. Colocalization of kisspeptin and gonadotropin-releasing hormone in the ovine brain.
Endocrinology 2006, **147**: 804-810
- Porte Daniel, JR, Denis G. Baskin and Michael W. Schwartz (2005)
Insulin Signalling in the central Nervous System
Diabetes **54**: 1264-1276, 2005
- Porter M.B., Cleaver B, Robinson G, Peltier M, Sheater L.C., Dahl G.E., Sharp DC, (1995). A comparative study examining the role of thyroid gland in seasonal reproduction in pony mares and ewes.
Biology of Reproduction 52 (S1), Abstract 312.
- Pralong, F.R., Voirol, M., Giacomini, M., Gaillard, R.C., Grouzmann, E., 2000. Acceleration of pubertal development following central blockade of the Y1 subtype of neuropeptide Y receptors.
Regul. Peptides **95**, 47-52.
- Qian H., Barb CR, Compton, Hausman GJ, Azain MJ, Kraeling RR, Baile CA.

- Leptin mRNA expression and serum leptin concentrations as influenced by age, weight, and estradiol in pigs
Domestic Animal Endocrinology Vol **16**(2): 135-143, 1999
- Rabinowitz E., Klaasen GA, Zierler KL 1965. Effect of human growth hormone on muscle and adipose tissue metabolism in the forearm of man. *Journal Clinical Investigation* **44**: 51-61.
- Rae MT., Rhind SM, Miller DW and Brooks AN (2002). Maternal undernutrition alters triiodothyronine concentrations and pituitary response to GnRH in fetal sheep. *Journal of Endocrinology* **173**, 449-455.
- Rance NE., Uswandi SV. Gonadotropin-releasing hormone gene expression is increased in the medial basal hypothalamus of postmenopausal woman. *Journal Clinical Endocrinology & Metabolism* 1996, **81**: 3540-4546.
- Rapisarda JJ Bergman KS, Steiner RA and Foster DL (1983) Response to estradiol inhibition of tonic luteinizing hormone secretion decreases during the final stage of puberty in the rhesus monkey *Endocrinology* **112**, 1172-1178
- Raposinho PD., Pedrazzini T, White RB, Palmiter RD, Aubert ML. Chronic neuropeptide Y infusion into the lateral ventricle induces sustained feeding and obesity in mice lacking either NPY1r or NPY5r expression. *Endocrinology* **145**: 304-310, 2004.
- Raposinho, P.D., Broqua, P., Pierroz, D.D., Hayward, A., Dumont, Y., Quirion R., Junien, J.L., Aubert, M.L., 1999. Evidence that the inhibition of luteinizing hormone secretion exerted by central administration of neuropeptide Y (NPY) in the rat is predominantly mediated by the NPY-Y5 receptor subtype. *Endocrinology* **140**, 4046-4055
- Rawson JA., Scott CJ, Pereira A, Jakubowska A, Clarke IJ. Noradrenergic projections from the A1 field to the preoptic area in the brain of the ewe and Fos responses to oestrogen in the A1 cells.

- Journal Neuroendocrinology 2001, **13**: 129-138.
- Reaven GM:
The insulin resistance syndrome: definition and dietary approaches to treatment.
Annu Rev Nutr 2005;**25**:391-406
- Reinhardt R., Bondy C. Insulin-like growth factors cross the blood-brain barrier.
Endocrinology **135**: 1753-1761, 1994.
- Ren D., Li M, Duan C, and Liangyou Rui L.,
Cell Metabolism (2005): AUGUST 2005 · VOL. **2**
- Renaville R., Hammadi M, and Portetelle D. (2002). Role of the somatotrophic axis in the mammalian metabolism.
Domestic Animal Endocrinology **23**, 351-60.
- Reul BA., Ongemba LN, Pottier AM, Henquin JC & Brichard SM (1997)
Insulin and insulin-like growth factor 1 antagonize the stimulation of the ob gene expression by dexamethasone in cultured rat adipose tissue.
Biochemical Journal **342** 605-610
- Rhind S., And McMillen SR. (1995). Seasonal changes in systemic hormone profiles and their relationship to patterns of fibre growth and moulting in goats of contrasting genotypes.
Australian Journal of Agricultural Research **46**, 1273-1283.
- Richardson, E. C., R. M. Herd, P. F. Arthur, J. Wright, G. Xu, and V. H. Oddy. 1996.
Possible physiological indicators for net feed conversion efficiency in beef cattle.
Pages 103-106 in Proc. Aust. Soc. Anim. Prod., Queensland, Australia.
- Riis PM and Madsen A., (1985). Thyroxine concentration and secretion rates in relation to pregnancy, lactation and energy balance in goats.
Journal of Endocrinology **107**, 421-427.

- Ringberg Lund Larsen., Bakke H. Growth hormone and sotatomedin activities in lines of pigs selected for rate of gain and thickness of backfat. *Acta Agriculturae Scandinavia* **25**: 231-234, 1975
- Roberts C.A., McCutcheon SN, Blair HT, Gluckman PD and Breier BH. Developmental Patterns of Plasma Insulin-like Growth Factor-1 Concentrations in Sheep *Domestic Animal Endocrinology* Vol **7(4)**: 457-464, 1990
- Roberts CA., McCutcheon SN, Blair HT, Cluckman PD, Breier BH. Developmental patterns of plasma insulin-like growth factor-I concentrations in sheep. *Domestic Animal Endocrinology* 1990; **7**:457-463
- Roberts CA., McCutcheon SN, Blair HT. (1990). Developmental patterns of plasma insulin-like growth factor-1 concentration in sheep. *Dom Anim Endocrinol* **4**: 457-463
- Rogdakis E., Ensinger U., and Faber H.V., 1979. Hormonspiegel in plasma und Enzymaktivitäten im Fettgewebe von Pietrain – und Edelschweinen. *Z. Tierzuechtg. Zuechtgsbiol.*, **79**, 108-119.
- Roh SG., Clarke IJ, Xu RW, Goding JW, Loneragan K & Chen C (1998). The in vitro effect of leptin on basal and growth hormone-releasing hormone secretion from the ovine pituitary gland. *Neuroendocrinology* **68** 361-364
- Rometo AM., Krajewski SJ, Voytko ML, Rance NE. Hypertrophy and increased kisspeptin gene expression in the hypothalamic infundibular nucleus of postmenopausal women and ovariectomised monkeys. *J Clin Endocrinology Metabolism* 2007; **92**: 2744-2750
- Russell S., Kim M.S., Small, C.J., Abbott C.R., Morgan D.G.A., Taheri S, Murphy K.G., Todd J.F., Ghatei M.A., and Bloom S.R. (2000). Central administration of orexin A suppresses basal and domperidone stimulated plasma prolactin. *Journal of Neuroendocrinology* **12**, 1213-8.
- Rutter, L.M., And Manns, J.G. (1987). Jypoglycemia alters pulsatile luteinizing hormone secretion in the postpartum beef cow. *Journal of Animal Science* **64**, 479-88

- Sahu A., Phelps C.P., Sninsky, C.A., Karla P.S., and Kalra S.P. (1992). Steroidal regulation of hypothalamic neuropeptide Y release and gene expression. *Endocrinology* **130**, 3331-6.
- Sahu, A., Kalra, P.S., Kalra, S.P., 1988. Food deprivation and ingestion induce reciprocal changes in neuropeptide Y concentrations in the paraventricular nucleus. *Peptides* **9**, 83-86.
- Sakata I Nakamura K, Yamazaki M, Matsubara M, Hayashi Y, Kangawa K et al., Ghrelin-producing cells exist as two types of cells, closed-and opened-type cells, in the rat gastrointestinal tract. *Peptides* 2002, **23**: 531-536
- Sakurai K., Ohkura S, Matsuama S, Katoh K, Obara Y and Okamura H., (2004). Body Growth and Plasma Concentrations of Metabolites and Metabolic Hormones during Pubertal Period in Female Shiba Goats. *Journal of Reproduction and Development*, Vol. **50**, No. 2, 2004. *Journal Reproductive Development* **50**: 197-205, 2004.
- Sakurai T., Amemiya A, Ishii M, Matsuzaki I, Chemelli R.M., Tanaka H, Williams S.C., Richardson J.A., Kozlowski G.P., Wilson S, Arch J.R., Buckingham R.E., Haynes A.C., Carr S.A., Annan R.S., McNulty D.E., Liu W.S, Terrett J.A., Elshourbary N.A., Bergsman D.J., and Yanagisawa M. (1998). Orexins and orexin receptors: a family of hypothalamic neuropeptides and G-protein coupled receptors that regulate feeding behaviour. *Cell* **92**, 573-85.
- Sar, M., Sahu A., Crowley W.R., and Kalra S.P. (1990). Localization of neuropeptide Y immunoreactivity in estradiol-concentrating cells in the hypothalamus. *Endocrinology* **127**, 2752-6.
- Sartin J.L., Dyer C, Matteri R, Buxton D, Buonomo F, Shores M, Baker J, Osborne J.A., Braden T., and Steele B. (2001). Effect of

- intracerebroventricular orexin-B on food intake in sheep.
Journal Animal Science **79**, 1573-7.
- Schauffhauser, A.O., Stricker- Krongrad, A., Brunner, L., Cumin, F., Gerald, C., Whitebread, S., Criscione, L., Hofbauer, K.G., 1997. Inhibition of food intake by neuropeptide Y Y5 receptor antisense oligodeoxynucleotides.
Diabetes **46**, 1792-1798.
- Schillo Keith., Hall John, Hileman Stanley Effects of Nutrition and Season on the Onset of Puberty in the Beef Heifer
Journal Animal Sci 1992, **70**: 3994-4005
- Schneider JE Wade GN, Availability of metabolic fuels controls estrous cyclicity of Syrian hamsters.
Science 1989: **244**:1326-1328
- Schneider JE., Goldman MD, Tang S, Bean B, Ji H, Friendman MI. Leptin indirectly affects estrous cycle by increasing metabolic fuel oxidation.
Hormonal Behaviour 1998, **33**: 217-228
- Schussler G.C., And Orlando J., 1978. Fasting decreases Triiodothyronine receptor capacity. *Science* **199**, 686-688.
- Schwartz GJ. The role of gastrointestinal vagal afferents in the control of food intake: current prospects.
Nutrition 2000. **16**: 866-873.
- Schwartz M.W., Seeley R.J., Woods S.C., Weigle D.S., Campfield L.A., Burn P., and Baskin D.G., (1997). Leptin increases hypothalamic pro-opiomelanocortin mRNA expression in the rostral arcuate nucleus.
Diabetes **46**, 2119-23.
- Schwartz MW Wood SC, Porte JR, D., Seeley, RJ, Baskin, DG, 2000
 Central nervous system control of food intake
Nature **404**, 661-671
- Schwartz MW., Seeley RJ, Campfield LA, Burn P & Baskin DG. Identification of leptin action in rat hypothalamus.
Journal of Clinical Investigation 1996 **98** 1101-1106

- Schwartz MW., Seeley RJ, Campfield LA, Burn P, Baskin DG 1996. Identification of targets of leptin action in rat hypothalamus. *Journal of Clinical Investigations* **98** 1101-1106.
- Schwastz MW Wood SC, Seelay RJ., Barch, GS, Baskin DG, Leibel RL., 2003 Is the energy homeostasis system inherently biased toward weight gain?
- Seminara SB Messagers S, Chatzidaki EE, Thresher RR, Acierno JS, Shagary JK, Bo-Abbas Y, Kuohung W, Schwinof KM, Hendrick AG, Zahn D, Dixon J, Kaiser UB, Slaugenhaupt SA, Gusella JF, O' Rahilly S, Carlton MBL, Crowley WF, Aparicio SAJR and Colledge WH. (2003). The GPR54 gene as a regulator of puberty. *New England Journal of Medicine* **349** 1614-1627
- Seminara SB., Messenger S, Chatzidaki EE, Thresher RR, Acierno Jr JS, Shagoury JK, Bo-Abbas Y, Kuohung W, Schwinof KM, Hendrick AG, Zahn D, Dixon J, Kaiser UB, Slaugenhaupt SA, Gusella JF, O' Rahilly S, Carlton MB, Crowley Jr WF, Aparicio SA, Colledge WH (2003). The GPR54 gene as a regulator of puberty. *N England J Medicine* **349**: 1614-1627
- Shahab M., Mastronadi C, Plant TM, Ojeda SR, Crowley Jr WF, Seminara SB. Hypothalamic GPR-54 expression and signalling during the peripubertal period in the rhesus monkey (*Macaca mulatta*). Program of the 86th Annual Meeting of the Endocrine Society. New Orleans, LA, 2004, p.259 (Abstract P3-269)
- Shiia T., Nakazato M., Mizuta M., Date Y., Mondal MS., Tanaka M., et al., Plasma ghrelin levels in lean and obese humans and the effect of glucose on ghrelin secretion. *Journal Clinical Endocrinology & Metabolism* 2002, **87**: 240-244
- Shimizu H., Shimomura Y, Hayashi R, Ohtani K, Sato N, Futawatari T and Mori M (1997). Serum leptin concentration is associated with

- total body fat mass, but not abdominal fat distribution
International Journal of Obesity (1997) **21**, 536-541
- Shintani M., Ogawa Y., Ebihara K., Aizawa-ABE M., Miyanaga F., Takaya et al., Ghrelin, an endogenous growth hormone secretagogue, is a novel orexigenic peptide that antagonizes leptin action through the activation of hypothalamic neuropeptide Y/Y1 receptor pathways.
Diabetes, 2001, **50**: 227-232
- Shirley K.L., Hernandez J.A., Hallford D.M., Thomas M.G. (2001). Serum luteinizing hormone, growth hormone and insulin-like growth factor-1 after releasing hormone challenge in prepubertal ewe lambs selected for twinning.
Theriogenology **56**: 867-877, 2001.
- Shutter J.R., Graham M., Kinsey A.C., Scully, S., Luthy R., and Stark K.L. (1997). Hypothalamic expression of ART, a novel gene related to agouti, is up-related in obese and diabetic mutant mice.
Genes Dev **11**, 593-602.
- Siddiqui RA., Blair HT, McCutcheon SN, Mackenzie DDS, Gluckman PD, Breier BH. Developmental patterns of plasma insulin-like growth factor-1 in mice.
Genetic Research (Cambridge) **53**: 187-191, 1989
- Siiteri P.K. & MacDonald PC (1973). Role of extrandular estrogen in human endocrinology. In Handbook of Physiology, section 7, vol 2, part 1 pages 615-629. New York: American Physiology Society.
- Siiteri PK (1981). Extraglandular oestrogen functions and serum binding of estradiol: Relationship to cancer.
Journal of Endocrinology **89**, 119P-129P.
- Simerly RB. Organization and regulation of sexually dimorphic neuroendocrine pathways.
Behav Brain Research 1998. **92**:195-203.
- Sivitz WI Walsh SA, Morgan DA, Thomas MJ, Haynes WG. Effects of leptin and insulin sensitivity in normal rats.
Endocrinology 1997, **138**: 3395-3401

- Skinner D.C., And Herbison A.E. (1997). Effects of photoperiod on estrogen receptor, tyrosine hydroxylase, neuropeptide Y, and beta-endorphin immunoreactivity in the ewe hypothalamus. *Endocrinology* **138**, 2585-95.
- Smith F.J., Campfield L.A., Moschera J.A., Bailon P.S., and Burn P. (1996). Feeding inhibition by neuropeptide Y. *Nature* **382**, 307.
- Smith Jeremy Kisspeptin signalling in the brain: Steroid regulation in rodent and ewe
Brain Research Reviews **57** (2008) 288-298
- 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**:6687-94.
- Smith JT., Rao A, Pereira A, Caraty A, Millar RP, Clarke IJ. Kisspeptin is present in ovine hypophysial portal blood but does not increase during the preovulatory luteinizing hormone surge: Evidence that gonadotropes are not direct targets of kisspeptin in vivo. *Endocrinology* 2008; **149**:1951-9
- Smith JT., Sex steroid control of hypothalamic Kiss1 expression in sheep and rodents: Comparative aspects. *Peptides* **30** (2009) 94-102
- Smith JT., Cunningham MJ., Rissman EF, Clifton DK., Steiner RA (2005). Regulation of Kiss1 gene expression in the brain of the female mouse. *Endocrinology* **146**: 3686-3692
- Smith JT., Acohido BV, Clifton DK, Steiner RA. KiSS-1 neurons are direct targets for leptin in the ob/ob mouse. *Journal of Neuroendocrinology* (2006) **18**:298-303.
- Smith MJ Jennes L and Wise PM (2000) Localization of the VIP2 receptor protein on GnRH neurons in the female rat
Endocrinology **141** 4317-4320
- Smith RG., Jiang H, Sun Y. Developments in ghrelin biology and potential

- clinical relevance.
Trends Endocrinology & Metabolism. 16, 436-442 (2005).
- Souza MIL., Bicudo SD, Uribe-Velasquez LF and Ramos AA (2002).
Circadian and circannual rhythms of T3 and T4 concentrations in
Polwarth-ideal rams.
Small Ruminant Research **46**, 1-5.
- Spaulding S.W., Chopra I.J., Sherwin R.S., and Lyall S.S., 1976. Effect of caloric
restriction and dietary composition on serum T3 and reverse T3 in
man.
J Clin Endocrinol. Metab **42**, 197-200
- Stafford LJ., Xia C., Ma W., Cai Y., Liu M., (2002). Identification and
characterization of mouse metastasis-suppressor KiSS1 and its G-
protein-coupled receptor.
Cancer Res **62**: 5399-5404
- Stanley B.G., Kyrkouli S.E., Lampert S., and Leibowitz, S.F., (1986).
Neuropeptide Y chronically injected into the hypothalamus: a
powerful neurochemical inducer of hyperphagia and obesity.
Peptides **7**, 1189-92.
- Stanley B.G., And Leibowitz S.F. (1984). Neuropeptide Y: stimulation of
feeding and drinking by injection into the paraventricular nucleus.
Life Science **35**, 2635-42.
- Steiner RA., Cameron JL, McNeil TH, Clifton DK, Bremner WJ. Metabolic
signals for the onset of puberty. In Norman RL (ed)
Neuroendocrine Aspects of Reproduction. New York: Academic
Press, 1983:183-227
- Stephens TW., Basinski M, Bristow PK, Bue-Vallesky JM, Burgett SG, Craft L
et al., The role of neuropeptide Y in the antiobesity action of the
obese gene product.
Nature 1995 **377** 530-532
- Stone RT Kappes SM, Beattie CW. The bovine homolog of the obese gene
maps to chromosome 4.
Mammalian Genome 1996, **7**: 399-400
- Stoner C.D., Knight R.L., Gifford C.A., Garcia V.M., Abercombie L.D.,

- McBee M.J., and Hallford D.M., (2005). Relationships among growth traits, serum hormone profiles, and date of puberty in rambouillet ewe lambs.
Proceedings, Western Section, American Society of Animal Science Vol.56.2005.
- Sun CL., Thoa NB, Kopin IJ. Comparison of effects of 2-deoxyglycose and immobilization on plasma levels of catecholamines and corticosterone in awake rats.
Endocrinology 1979, **105**: 306-311
- Suter KJ., Pohl CR., Wilson ME. Circulating concentrations of nocturnal leptin, growth hormone, and insulin-like growth factor-I increase before the onset of puberty in gonadal male monkeys: potential signals for the initiation of puberty.
Journal Clinical Endocrinology & Metabolism **85**: 808-814 (2000).
- Swain JE., Dunn RL., Mc Connell D., Gonzalez-Martinez J and Smith GD (2004). Direct effects of leptin on mouse reproductive function: regulation of follicular, oocyte, and embryo development.
Biology of Reproduction **71**, 1446-1452.
- Swedloff R Peterson M, Vera A, Batt R, Heber D, Bray G. The hypothalamic-pituitary axis in genetically obese (ob/ob) mice: response to luteinizing-releasing hormone.
Endocrinology 1996, **137**: 3144-7
- Sweet D.C., Levine A.S., Billington C.J., and Kotz C.M. (1999). Feeding response to central orexins.
Brain Research 821, 535-8.
- Swedloff R Batt R, Bray G. Reproductive hormonal function in the genetically obese (ob/ob) mice
Endocrinology 1976, **98**: 1359-64
- Syed M.A., Thompson M.P., Pachucki J, and Burneister L.A. (1999). The effect of thyroid hormone in size of fat depots accounts for most of the changes in leptin mRNA and serum levels in the rat.
Thyroid **9**, 503-12.

- Taha TA., Abdel-Gawad EL and Ayoub MA (2000). Monthly variations in some reproductive parameters of Barki and Awassi rams throughout 1 year under subtropical conditions. Semen Characteristics and hormonal levels. *Animal Science* **71**, 317-324.
- Tanaka T., Nagatani S, Bucholtz DC, Ohkura S, Tsukamura H, Maeda K, Foster DL. Central action of insulin regulates pulsatile luteinizing hormone secretion in the diabetic sheep model. *Biology of Reproduction* 2000, **62**: 1256-1261.
- Tanaka, T., Nagatani, S., Bucholtz, D.C., Ohkura, S., Tsukamura, H., Maeda, K., and Foster D.L. (2000). Central action of insulin regulates pulsatile luteinizing hormone secretion in the diabetic sheep model. *Biology of Reproduction* **62**, 1256-61.
- Tang-Christensen M., Holst, J.J., Hartmann B., and Vrang N. (1999). The arcuate nucleus is pivotal in mediating the anorectic effects of centrally administered leptin. *Neuroreport* **10**, 1183-7.
- Tannenbaum G., Guyda HT., Posner BI. Insulin-like growth factors: a role in growth hormone negative feedback and body weight regulation via brain. *Science* **220**: 77-79, 1983.
- Tannenbaum. GS., Gurd W & Lapointe M (1998). Leptin is a potent stimulator of spontaneous pulsatile growth hormone (GH) secretion and the GH response to GH-releasing hormone. *Endocrinology* **139** 3871-3875
- Tanner JM., Whitehouse RH, Hughes PCR, Carter BS (1976). Relative importance of growth hormone and sex steroids for the growth at puberty of trunk length, limb length, and muscle width in growth hormone-deficient children. *J Perdiatric* **89**:1000-1008
- Taylor & Francis *Endocrinology*, 2001
- Tena – Sempere Manuel (2006) GPR54 and Kisspeptin in reproduction

- Human Reproduction Update Vol **12**, No5, pp. 631-639, 2006.
- Tena-Sempere M., Barreiro ML, Lage M, Dieguez C and Casanueva FF (2007) Role of leptin and ghrelin in the regulation of gonadal function Expert Rev Endocrinology Metabolism **2(2)**, 239-249 (2007).
- Tena-Sempere M And Barreiro ML (2002). Leptin in male reproduction: the testis paradigm. Molecular & Cellular Endocrinology **188** 9-13
- Terasawa And Fernadez DL (2001) Neurobiological mechanisms of the onset of puberty in primates Endocrine Reviews **22** 111-151
- Terasawa E Luteinizing hormone-releasing hormone (LHRH) neurons: mechanism of pulsatile LHRH release. Vitam Horm 2001. **63**: 91-129.
- The Wikipedia: The Free Encyclopedia.
- Thorn S.R., Meyer M.J., Van Amburth M.E., and Boisclair Y.R., (2007). Effect of Estrogen on Leptin and Expression of Leptin Receptor Transcripts in Prepubertal Dairy Heifers. Journal of Dairy Science. **90**: 3742-3750.
- Thrun L.,A., Dahl GE, Evans NP, Karsch FJ. (1996). Time –course of thyroid hormone involvement in the development of anestrus in the ewe. Biology of Reproduction **55**. 833-837.
- Thrun LA., Dahl GE, Evans NP and Karsch FJ (1997b). Effect of thyroidectomy on maintenance of seasonal reproductive suppression in the ewe. Biology of Reproduction **56**, 1035-1040.
- Thurn L.A., Dahl G.E., Evans N.P., Karsch F.J. (1997). Effect of thyroidectomy on maintenance of seasonal reproductive suppression in the ewe. Biology of Reproduction **56**, 1035-1040.
- Tobet SA Bless SP and Schwarting GA (2001) Developmental aspect of the gonadotropin-releasing hormone system. Molecular and Cellular Endocrinology **185** 173-184
- Todini L., Delgadillo JA, Debenedetti A and Chemineau P (2006). Plasma

- total T3 and T4 concentrations in bucks as affected by photoperiod.
Small Ruminant Research **65**, 8-13.
- Todini L., Malfatti A, Valbonesi A, Trabalza-Marinucci M and Debenedetti A (2007). Plasma total T3 and T4 in goats at different physiological stages, as affected by energy intake.
Small Ruminant Research **68**, 285-290.
- Tomas, F. M., R. A. Pym, J. P. McMurtry, and G. L. Francis. 1998. Insulin-like growth factor (IGF)-I but not IGF-II promotes lean growth and feed efficiency in broiler chickens. *Gen Comp Endocrinol* 110: 262-275.
- Toran – Allerand CD., Ellis L., Pfenniger KH. Estrogen and insulin synergism in neurite growth enhancement in vitro: mediation of steroid effects by interactions with growth factors?
Devel Brain Res **41**: 87-100, 1988.
- Torres- Aheman I. Insulin-like growth factors as mediators of functional plasticity in the adult brain.
Hormones Metabolism Revision **31**: 114-119, 1999.
- Travers SH., Jeffers BW, Bloch CA, Hill JO, Eckel RH 1995. Gender and Tanner stage differences in body composition and insulin sensitivity in early pubertal children.
Journal Clinical Endocrinology & Metabolism **80**: 172-178
- Tschop M., Statnick MA., Sutter TM., Heiman ML. GH-releasing peptide-2 increases fat mass in mice lacking NPY: indication for a crucial mediating role of hypothalamic agouti-related protein.
Endocrinology 2002, **143**: 558-568
- Urban J., Bauer-Dantoin A., C., and Levine J.E. (1993). Neuropeptide Y gene expression in the arcuate nucleus: sexual dimorphism and modulation by testosterone.
Endocrinology **132**, 139-45.
- Utiger RD., (1995). The thyroid: physiology, thyrotoxicosis, hypothyroidism

- and the painful thyroid. In: Endocrinology and metabolism, third edition (ed. P Felig, JD Baxter and LA Frohman), pp.435-519. McGraw-Hill Inc, New York.
- Vagenakis A.G., Burger A, Portway G.I., Rudolf M, O' Brian J.T., Azizi F, Arky R.A., Nicod P, Ingbar S.H, and Braverman L.E., 1975. Diversion of peripheral thyroxine metabolism from activating pathways during complete fasting.
J Clin Endocrinol Metabol **41**, 191-194
- Vagenakis A.G., Portway G.I, O' Brian J.T., Rudolph M, Arky R.A., Ingbar S.H, and Braverman L.E. 1977. Effect of starvation on the production and metabolism of Thyroxine and Triiodothyronine in euthyroid obese patients.
J Clin Endocrinol Metabol., **45**. 1305-1309
- Vanderkooi W.K., Vandehaer M.J., Sharma B.K., Binelli M, Tucker H.A., Akers RM, and Moseley WM. (1995). Comparison of growth hormone-releasing factor and somatotropin: the somatotropic axis in lactating primiparous cows.
Journal Dairy Science **78**, 2140-9.
- Vasudevan N., Ogawa S, Pfaff D (2002). Estrogen and thyroid hormone receptor interactions: physiological flexibility by molecular specificity.
Physiological flexibility by molecular specificity.
Phyiol Rev **82**: 923-944
- Vigersky RA., Anderson AE, Thompson RH & Loriaux DL (1977). Hypothalamic dysfunction in secondary amenorrhoea associated with simple weight loss.
New England Journal of Medicine **297**, 1141-1145.
- Viguie C., Battaglia D.F., Krasa HB, Karsch FJ. (1997). Les hormones thyroïdiennes agissent au niveau central et independamment du retrocontole negatif sur la secretion de TSH pour permettre l' inhibition saisonniere de la secretion de LH chez la brebis.
Ann. Endocrinology **58**, 1823-1829.
- Villar D., McMillen SR, Dicks P and Rhind SM (2000a). The roles of thyroid hormones and prolactin in the control of fibre moult and

- associated changes in hair follicle activities in cashmere goats.
Australian Journal of Agricultural Research **51**, 407-414.
- Visser T.J., Lamberts S.W.J., Wilson J.H.P., Docter R, and Hennemann G.,
 1978. Serum thyroid hormone concentrations during prolonged
 reduction of dietary intake.
Metabolism ., **27**, 405-409
- Vuagnat BA., Pierroz DD, Lalaoui M, Englaro P, Pralong FP, Blum WF, Aubert
 MIL. Evidence for a leptin-neuropeptide Y axis for the regulation
 of growth hormone secretion in the rat.
Neuroendocrinology 1989; **67**:291-300
- Vuagnat BAM., Pierroz DD, Lalaoui M, Englaro P, Pralong FP, Blum WF &
 Aubert ML (1998). Evidence for a leptin –neuropeptide Y axis
 for the regulation of growth hormone secretion in the rat.
Neuroendocrinology **67** 291-300
- Wade GN., Schneider JE. Fat does not mean fertile.
J NIH Res 1996; **8**:19
- Walczewska A., Yu, W.H., Karanth S., and McCann S., M. (1999). Estrogen and
 leptin have differential effects on FSH an LH release in female
 rats.
Proc Soc Exp Biol Medicine **222**, 170-7.
- Wang J.L., Chinookoswong N, Yin S, and Shi Z.Q., (2000). Calorigenic
 actions of leptin are additive to, but not dependent on, those of
 thyroid hormones.
Am Journal Physiology Endocrinology & Metabolism **279**,
 E1278-85.
- Wang L., Saint-Pierre DH., Tache Y. Peripheral ghrelin selectively
 increases Fos expression in neuropeptide Y-synthesizing neurons
 in mouse hypothalamic arcuate nucleus.
Neuroscience Letters 2002, **325**: 47-51
- Watanobe H., Yoneda M., Kohsaka A., Kakizaki Y., Suda T and Schioth HB
 (2001). Normalization of circulating leptin levels by fasting
 improves the reproductive function in obese OLETF female rats.
Neuropeptides **35**, 45-49

- Watanobe H., Suda T, Wilberg JE, Schioth HB. Evidence that physiological levels of circulating leptin exert a stimulatory effect on luteinizing hormone and prolactin surges in rats.
Biochem Res Commun 1999, **263**:162-5
- Watson RE. Jr, Langub Mc Jr, Engle MG, Maley BE. Estrogen- receptive neurons in the anteroventral periventricular nucleus are synaptic targets of the suprachiasmatic nucleus and peri-suprachiasmatic region.
Brain Research 1995, **689**: 254-264.
- Webster J.R., Moenter S.M., Woodfill CJI., Karsch FJ. (1991a): Role of the thyroid gland in seasonal reproduction. Thyroxin allows a season-specific suppression of gonadotropin secretion in sheep.
Endocrinology **129**, 176-183.
- Webster J.R., Moenter SM, Barrell GK, Lenham MN, Karsch FJ (1991b): Role of the thyroid gland in seasonal reproduction. Thyroidectomy blocks seasonal suppression of gonadotropin-releasing hormone secretion in sheep.
Endocrinology **129**, 1635-1643.
- Wether A., Hogg A., Oldfield BJ., McKinley MJ., Figdor R., Mendelsohn FAO. Localization and characterization of IGF-1 receptors in rat brain and pituitary gland using in vitro autoradiography and computerized densitometry. A distinct distribution from insulin receptors.
Journal Neuroendocrinology **1**: 369-377, 1989.
- Whisnant SC., Havern RL, Goodman RL 1991. Endogenous opioid suppression of luteinizing hormone pulse frequency and amplitude in the ewe: hypothalamic sites of action.
Neuroendocrinology **54** 587-593
- Wildt L Marshall G and Knobil E (1980) Experimental induction of puberty in the infertile female rhesus monkey.
Science 207 1373-1375
- Wohcik Gladysz et al., (2006) Reproductive Biology Volume 6 Supplement 1

- Wojcik Gladysz A, Wankowska M, Misztal T, Polkowska J 2004. Leptin affect the secretory actovity of GnRH/LH axis during fasting in prepubertal lambs.
Biotechnology, Agronomy, Society & Environment **8** 39-40.
- Wojcik Gladysz A, Wankowska M, Misztal T, Polkowska J 2005. The effect of intacerebroventricular infusions of leptin on the immunoreactivity of NPY and GnRH neurons in the hypothalamus of prepubertal sheep in conditions of accute undernutrition.
The 4th Symposium of the Society for Biology of Reproduction and Polish-Japanese Seminar, 22-24 September, Krakow, Poland, p.116.
- Wood I Ruth and Douglas L Foster
Sexual differentiation of reproductive neuroendocrine function in sheep
Journals of Reproduction and Fertility (1998)
Reviews of Reproduction **3** 130-140
- Wood RL Ebling FJP and Foster DL (1991b)
Sex differences in nutritional modulation of gonadotropin secretion during development studies in the growth-retarder lamb.
Biology of Reproduction **44** 632-639
- Woods SC., Seelay RJ. Hormonal mediation of energy homeostasis in obesity, diabetes and related disorders.
Drug Discovery Today: Disease Mechanisms 2005. **2**: 321-326.
- Woods SC., Benoit SC, Clegg DJ, Seelay RJ. Regulation of energy homeostasis by peripheral signals. Best Practice Res Clinical Endocrinology and Metabolism 2004, **18**:497-515.
- Wren AM., Seal LJ., Cohen MA., Brynes AE., Frost GS., Murphy KG et al., Ghrelin enhances appetite and increases food intake in humans.
Journal Clinical Endocrinology & Metabolism 2001, **86**:59-92
- Wren AM., Small CJ., Abbott CR., Dhillo WS., Seal LJ., Cohen MA et al., Ghrelin causes hyperphagia and obeicity in rats.

- Diabetes 2001. **50**: 2540-2547.
- Wuttke W., Jarry H, Feleder C, Moguilevsky J, Leonhardi S, Seong JY, Kim K. The neurochemistry of the GnRH pulse generator.
Acta Neurobiol Exp (Warsz) 1996, **56**: 707-713
- Yamanaka A., Sakurai T, Katsumoto T, Yanagisawa M, and Goto, K. (1999). Chronic intracerebroventricular administration of orexin-A to rats increases food intake in daytime, but has no effect on body weight.
Brain Research **849**, 248-52.
- Yasuo S, Watanabe M, Nakao N, Takagi T, Follett BK, Ebihara S, and Yoshimura T (2005). The reciprocal switching of two thyroid hormones-activating and inactivating enzyme genes is involved in the photoperiodic gonadal response of Japanese quail.
Endocrinology **146**, 2551-2554
- Yasuo S., Nakao N, Ohkura S, Ligo M, Hagiwara S, Goto A, Ando H, Yamamura T, Watanabe M, Watanabe W, Oda S, Maeda K, Lincoln GA, Okamura H, Ebihara S, Yoshimura T (2006). Long-day suppressed expression of type 2 deiodinase gene in the mediobasal hypothalamus of the Saanen goat, a short-day breeder: implication for seasonal window of thyroid hormone action on reproductive neuroendocrine axis.
Endocrinology **147**: 432-440
- Yasuo Shinobu., Nakao Nobuhiro, Ohkura Satoshi, Iigo Masayuki, Hagiwara Satoko, Goto Akemitsu, Ando Hiroshi, Yamamura Takashi, Watanabe Miwa, Watanabe Tsuyoshi, Oda Sen-ichi, Maeda Kei-ichiro, Lincoln Gerald, Okamura Hiroaki, Ebihara Shizufumi, and Yoshimura Takashi
Long-Day Suppressed Expression of Type 2 Deiodinase Gene in the Mediobasal Hypothalamus of the Saanen Goat, a Short-Day Breeder: Implication for Seasonal Window of Thyroid Hormone Action on Reproductive Neuroendocrine Axis (2006)
Endocrinology **147** (1): 432-440

- Ye P., Unamayahara Y., Ritter D., Bunting T., Auman H., Rotwein P., D' Ercole AJ. Regulation of insulin-like growth factor I (IGF-1) gene expression in brain of transgenic mice expressing an IGF-1 luciferase fusion gene.
Endocrinology **138**: 5466-5475, 1997.
- Yelich JV., Wettemann RP, Dolezal HG, Lusby KS, Bishop DK, and Spicer LJ
Effects of Growth Rate on Carcass Composition and Lipid Partitioning at Puberty and Growth Hormone, Insulin- Like Growth Factor I, Insulin, and Metabolites Before Puberty in Beef Heifers
J Anim Sci 1995. **73**:2390-2405
- Yellon SM And Foster DL (1985) Alternate Photoperiods time puberty in the female lamb.
Endocrinology **116** 2090-2097
- Yen Paul M. Physiological and Molecular Basis of Thyroid Hormone Action (Review)
Physiology Revision **81**:1097-1142, 2001.
- Yildiz S., Blache D, Celebi F, Kaya I, Saatchi M, Cenesiz M and Guven B (2003). Effects of short-term high carbohydrate or fat intakes on leptin, growth hormone and luteinizing hormone secretions in prepubertal fat-tailed tuj lambs.
Reproduction Domestic Animals **38**, 182-186 (2003).
- Yonekura S., Senoo T., Kobayashi Y., Yonezawa T., Latoh K., Obara Y., Effects of acetate and butyrate on expression of leptin and short-form leptin receptors in bovine and rat anterior pituitary cells.
Gen Comp Endocrinology 2003, **133**: 165-72.
- York D.A., Otto W, and Taylor T.G., 1978. Thyroid status of obese (ob/ob) mice and its relationship to adipose tissue metabolism.
Comp. Biochem. Physiol., **59**, 59-65.
- Yoshimura T Yasuo S, Watanabe M, Iigo M, Yamamura T, Hinunagi K, and Ebihara S (2003). Light-induced hormone conversion of T4 to T3 regulated photoperiodic response of gonads in birds.

- Nature **426**, 178-181.
- Yoshimura Y. Insulin-like growth factors and ovarian physiology. *Journal Obstet Gynaecology Res* **24**: 305-323, 1998.
- Young WS, Bonner TJ, Braun MR 1986. Mesencephalic dopamine neurons regulate the expression of neuropeptide mRNA in the rat forebrain. *Neuroendocrinology* **83** 9827-9833.
- Yu WH., Kimura M, Walczewska A, Karanth S, McCann SM. Role of leptin in hypothalamic-pituitary function. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; **94**: 1023-1028
- Yu WH., Kimura M, Walczewska A, Karanth S, McCann SM. Role of leptin in hypothalamic-pituitary function. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997, **94**: 1023-8.
- Yusuf S, Hawken S, Ounpuu S, Bautista L, Franzosi MG, Commerford P, Lang CC, Rumboldt Z, Onen CL, Lisheng L, Tanomsup S, Wangai P Jr, Razak F, Sharma AM, Anand SS; INTERHEART Study Investigators: Obesity and the risk of myocardial infarction in 27,000 participants from 52 countries: a case-control study. *Lancet* 2005;**366**(9497):1640-9
- Zamini MJ., And Khodaei HR (2005). Seasonal thyroidal activity and reproductive characteristics of Iranian fat-tailed rams. *Animal Reproduction Science* **88**, 245-255
- Zamorani PL., Mahesh VB, De Sevilla LM, Chorich LP, Bhat GK, Bram DW. Expression and localization of the leptin receptor in endocrine and neuroendocrine tissues of the rat. *Neuroendocrinology* 1997; **65**:223-228
- Zarjevski N., Cusin I., Vettor R., Rohner-Jeanrenaud F., and Jeanrenaud B. (1993). Chronic intracerebroventricular neuropeptide Y administration to normal rats mimics hormonal and metabolic changes of obesity. *Endocrinology* **133**, 1753-8.

- Zhang S., Blache D, Blackberry MA, Martin GB. Dynamics of the response in secretion of LH, leptin and insulin following an acute increase in nutrition in mature male sheep.
Reproductive Fertility Development 2004, 16: 823-829.
- Zhang S., Blache D, Blackberry MA, Martin GB. Body reserves affect the reproductive endocrine responses to an acute change in nutrition in mature male sheep.
Animal Reproductive Science 2005. **88**: 257-269.
- Zhang Y., Proenca, R., Maffei, M., Barone, M., Leopold, L, and Friedman, J.M., (1994). Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue.
Nature **372**, 425-32
- Zieba D.A., Amstalden M, Maciel M.N., Keisler D.H., Raver N, Getler A, and Williams G.L. (2003a). Divergent effects of leptin on luteinizing hormone and insulin secretion are dose dependent.
Exp Biology Medicine **228**, 325-30.
- Zieba DA., Amstalden M, Morton S, Maciel MN, Keisler DH, Williams GL. Regulatory roles of leptin at the hypothalamic-hypophyseal axis before and after sexual maturation in cattle.
Biol Reprod 2004; **71**:804-12.

Βιβλιογραφικές Αναφορές από Διδακτορικές Διατριβές:

- Μπιζέλη Ιωσήφ
Ηλικία της ήβης και χαρακτηριστικά της πρώτης οιστρικής περιόδου αμνάδων των φυλών Χίου και Καραγκούνικης σε σχέση με το επίπεδο διατροφής
Διδακτορική Διατριβή Αθήνα 1989
Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών
Τμήμα Επιστήμης Ζωϊκής Παραγωγής και Υδατοκαλλιεργειών
Εργαστήριο Γενικής και Ειδικής Ζωοτεχνίας
- Fallah – Rad
Amir Hooshang Interrelation between thyroid hormones and onset of puberty in ram lambs
Thesis for the degree of Doctor of Philosophy (1998)
University of Manitoba
Department of Animal Science
- Brito Leonardo Fonseca Castro
Nutrition, Metabolic Hormones, and Sexual Development in Bulls
A Thesis Submitted to the College of Graduate Studies and Research in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of Doctor of Philosophy in the Department of Large Animal Clinical Sciences University of Saskatchewan
- Brown Erin Gwen
Sources of Biological Variation in Residual Feed Intake in Growing and Finishing Steers
Submitted to the Office of Graduate Studies of Texas A&M University

Oktavant R

in partial fulfillment of the requirements
for the degree of Doctor of Philosophy
Le Cycle Spermatogenique Chez Le
Belier

Zhang

Thesis for the degree of Doctor of
Philosophy (1958) University de Paris
Song B.Sc., M.Sc., Peripheral and
Central Pathways Linking Metabolic
Status and Reproduction in Male Sheep
Thesis for the degree of Doctor of
Philosophy (2005) The University of
Western Australia
Faculty of Natural and Agricultural
Science
School of Animal Biology