

درگیری مسیر کولینرژیک در هومئوستاز انرژی توسط گیرنده‌های دوپامینی نوع ۲ هسته‌ی و نترومدیال هیپوتالاموس

مأده قاسمی^۱، نسرين مهران فرد^۲، مینالسادات ایزدی^۳، عاطفه رعیت‌پور مقدم^۳، حجت‌اله علائی^۴

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: مطالعات نشان می‌دهند که دوپامین به ویژه از طریق گیرنده‌های D2 نقش مهمی در هومئوستاز انرژی دارد. مطالعه‌ی مشابهی نشان داد که گیرنده‌های D2 هیپوتالاموس از طریق کمپلکس پستی واگ می‌توانند در تنظیم ترشح گرلین نقش داشته باشند. مطالعه‌ی حاضر با هدف بررسی نقش سیستم کولینرژیک واگ در تنظیم سطوح پلاسمایی لپتین و گلوکز توسط گیرنده‌های D2 هسته‌ی و نترومدیال هیپوتالاموس (VMH یا Ventromedial hypothalamus) انجام شد.

روش‌ها: کانول‌گذاری در هسته‌ی VMH در موش‌های صحرایی نژاد Wistar (۲۵۰-۲۲۰ گرم) انجام شد. در روز آزمایش، آتروپین (آنتاگونیست کولینرژیک ۵ میلی‌گرم/کیلوگرم به صورت زیر جلدی) یا سالین به حیوانات ناشتا (۲۴-۲۰ ساعت) تزریق شد. ۳۰ دقیقه بعد، آگونیست (کینیپرول) و آنتاگونیست (سولپراید) گیرنده‌ی D2 به ترتیب در دزهای ۰/۵ و ۰/۰۵ میکروگرم و سالین (۰/۵ میکرولیتر) در VMH تزریق شدند. ۰، ۳۰ و ۶۰ دقیقه بعد نمونه‌های خون جمع‌آوری و سطوح لپتین و گلوکز خون به ترتیب با استفاده از کیت (ELISA) Enzyme-linked immunosorbent assay و روش گلوکز اکسیداز اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: سطح لپتین پلازما به طور وابسته به زمان در گروه آتروپین-کینیپرول در مقایسه با سطح پایه و شاهد کاهش معنی‌داری یافت ($P < ۰/۰۰۱$). در حالی که افزایش گلوکز خون به طور وابسته به زمان در گروه آتروپین-کینیپرول ($P < ۰/۰۰۱$) پایدار بود. در گروه آتروپین-سولپراید تغییر معنی‌داری در سطح لپتین پلازما در مقایسه با مقادیر پایه مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری: گیرنده‌های D2 در VMH اثر خود بر تنظیم سطوح لپتین و گلوکز را حداقل تا حدودی، از طریق مسیر کولینرژیک واگ انجام می‌دهند.

واژگان کلیدی: هسته‌ی و نترومدیال هیپوتالاموس، گیرنده‌ی D2 دوپامینی، سیستم کولینرژیک غیرنورونی، آتروپین

ارجاع: قاسمی مأده، مهران فرد نسرين، ایزدی مینالسادات، رعیت‌پور مقدم عاطفه، علائی . درگیری مسیر کولینرژیک در هومئوستاز انرژی توسط

گیرنده‌های دوپامینی نوع ۲ هسته‌ی و نترومدیال هیپوتالاموس. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۷؛ ۳۶ (۵۰۴): ۱۳۹۴-۱۳۸۹

مقدمه

عملکرد طبیعی دوپامین (Dopamine) در مغز، تنظیم کننده‌ی حیاتی برای حفظ رفتار تغذیه‌ی طبیعی است. موش‌های فاقد دوپامین دارای رفتارهای جستجوی غذا و خوردن غذا هستند، اما نمی‌توانند غذای کافی برای زنده ماندن مصرف کنند (۱). این امر، نشان دهنده‌ی نقش مهم سیگنالینگ دوپامین در عملکرد فیزیولوژیک مراکز اشتها است. اهمیت سیگنالینگ دوپامین در هومئوستاز انرژی، همچنین توسط مطالعاتی تأیید می‌شود که نشان می‌دهد دوپامین از طریق

هورمون‌های مرتبط با گرسنگی و سیری در تعادل انرژی و متابولیسم گلوکز درگیر می‌شود. برای مثال، تخریب انتخابی نورون‌های دوپامینرژیک هسته‌ی سوپراکساماتیک باعث مقاومت شدید به انسولین می‌شود (۲). به علاوه، درمان حیوانات مقاوم به انسولین، افراد مبتلا به دیابت نوع ۲ و افراد چاق با بروموکریپتین باعث کنترل بهتر قند و چربی خون می‌شود (۳-۵). به علاوه، مطالعات قبلی نشان می‌دهند که آزاد شدن لپتین (به عنوان هورمون سیری) تحت کنترل نورون‌های دوپامینرژیک است و دوپامین نقش فیزیولوژیکی خود را

۱- دکتری تخصصی، گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۲- استادیار، مرکز تحقیقات نوروفیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ارومیه، ایران

۳- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۴- استاد، گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

ناشتا (۲۴-۲۰ ساعت) ابتدا تزریق زیر جلدی آتروپین یا سالیین به میزان ۵ میلی گرم/کیلوگرم دریافت کردند. ۳۰ دقیقه بعد، آگونیست کینپیرول و آنتاگونیست سولپراید به ترتیب در دزهای ۰/۵ و ۰/۰۵ میکروگرم و سالیین (۰/۵ میکرولیتر) به VMH تزریق شدند. بدین ترتیب، حیوانات مورد مطالعه شامل ۴ گروه دریافت کننده‌ی سالیین زیر جلدی و سالیین درون هسته‌ای (گروه سالیین - سالیین یا Sham)، گروه دریافت کننده‌ی آتروپین زیر جلدی و سالیین درون هسته‌ای (گروه آتروپین - سالیین)، گروه دریافت کننده‌ی آتروپین زیر جلدی و کینپیرول درون هسته‌ای (گروه آتروپین - کینپیرول) و گروه دریافت کننده‌ی آتروپین زیر جلدی و سولپراید درون هسته‌ای (گروه آتروپین - سولپراید) بودند. زمان‌های ۰، ۳۰ و ۶۰ دقیقه پس از تزریق درون هسته‌ای داروها (کینپیرول، سولپراید و سالیین)، نمونه‌های خون (۵۰۰ میکرولیتر) با روش نمونه‌گیری خون از دم جمع‌آوری شدند. سپس، سطوح لپتین و گلوکز خون به ترتیب با استفاده از کیت ELISA لپتین (Zellbio Company ELISA kits, Germany) و روش گلوکز اکسیداز (پارس آزمون، ایران) اندازه‌گیری شد.

داده‌ها به صورت میانگین \pm انحراف معیار نمایش داده شد. $P < 0/05$ در همه‌ی آزمون‌ها به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد. برای واکاوی سیر زمانی لپتین و گلوکز، از آزمون Repeated measures ANOVA استفاده شد. از آزمون One-way ANOVA جهت واکاوی در یک نقطه‌ی زمانی بین گروه‌های مختلف استفاده گردید. همچنین، آزمون Paired t جهت ارزیابی اختلاف بین دو نقطه در یک گروه مورد استفاده قرار گرفت.

یافته‌ها

مهار مسیر کولینترژیک بر سطح لپتین پلازما: تغییرات معنی‌داری در میزان لپتین پلاسمای حیوانات دریافت کننده‌ی سالیین یا آتروپین قبل از تزریق درون هسته‌ای سالیین (گروه Sham) و گروه آتروپین - سالیین یافت نشد. سطح لپتین پلازما در زمان ۶۰ دقیقه در گروه آتروپین - کینپیرول به طور معنی‌داری در مقایسه با سطح پایه کاهش یافت ($P < 0/01$). در گروه آتروپین - سولپراید، هیچ تغییر معنی‌داری در سطح لپتین پلازما در زمان‌های ۳۰ و ۶۰ دقیقه در مقایسه با مقادیر پایه مشاهده نشد (شکل ۱).

مهار مسیر کولینترژیک بر سطح گلوکز خون: سطح گلوکز خون در زمان ۶۰ دقیقه در گروه آتروپین - سالیین در مقایسه با سطح پایه ($P < 0/001$) به طور معنی‌داری کاهش یافت؛ در حالی که در گروه شاهد (گروه سالیین پیش درمان با سالیین) میزان گلوکز خون تغییر نیافت. افزایش سطح گلوکز خون از زمان ۳۰ دقیقه تا ۶۰ دقیقه در

در تعادل انرژی تا حدودی از طریق تنظیم سطح پلاسمایی لپتین یا سایر سیگنال‌های محیطی هومئوستاتیک انجام می‌دهد (۸-۶). از طرف دیگر، مطالعه‌ی دیگری نشان داد که گیرنده‌های D2 هیپوتالاموس از طریق کمپلکس پستی واگ می‌تواند در تنظیم ترشح گرلین نقش داشته باشند (۹). همچنین، درمان با آگونیست و آنتاگونیست گیرنده‌های کولین می‌تواند میزان اشتها را تحت تأثیر قرار دهد (۱۱-۱۰). مدار واگی - واگی در کمپلکس پستی واگ ورودی نزولی را از نواحی مختلف هیپوتالاموس دریافت می‌کند منجر به خروجی از هسته‌ی حرکتی پستی واگ می‌شود و عصب واگ را جهت ذخیره‌ی انرژی و تعادل انرژی فعال می‌کند (۱۴-۱۲).

از آن جایی که ارتباط پیچیده و گسترده (Projection) قوی از هیپوتالاموس به هسته‌ی پستی واگ وجود دارد و نیز با توجه به فراوانی گیرنده‌های D2 دوپامینی در VMH، در این مطالعه نقش عصب واگ در تنظیم میزان لپتین و گلوکز پلازما با مداخله‌ی گیرنده‌های D2 هیپوتالاموس مورد بررسی قرار گرفت.

روش‌ها

حیوانات: موش‌های نر نژاد Wistar با وزن ۲۵۰-۲۲۰ گرم (مؤسسه‌ی پاستور، ایران) تحت شرایط کنترل شده (23 ± 2 درجه‌ی سانتی‌گراد، رطوبت ۴۰-۳۰ درصد و دوره‌ی روشنایی/ تاریکی ۱۲ ساعته) با دسترسی آزاد به آب و غذا قرار داشتند. نمونه‌های حیوانی به طور تصادفی انتخاب ($n = 6$) و در گروه‌های شاهد و مورد قرار گرفتند. تمام آزمایش‌ها، طبق راهنمای مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی (مؤسسات ملی بهداشت، انتشارات شماره‌ی ۸۰-۲۳، تجدید نظر شده در سال ۱۹۹۶) انجام شد. در این مطالعه، از آگونیست (هیدروکلراید کینپیرول) و آنتاگونیست (سولپراید) گیرنده‌ی D2 دوپامینی و آتروپین سولفات منوهدرات (آنتاگونیست کولینترژیک) استفاده شد.

تزریق داروها و انجام آزمایش: در آزمایش حاضر، نقش عصب واگ در تنظیم هومئوستاز انرژی با مداخله‌ی گیرنده‌های D2 هیپوتالاموس مورد بررسی قرار گرفت. جهت تزریق داروها به داخل هسته‌ی VMH، ابتدا حیوان با تزریق داخل صفاقی کلرات هیدرات (۴۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) بیهوش و سپس، کانول‌گذاری با استریوتاکسی صورت گرفت.

مطابق اطلس Paxinos (L: ۰/۷، DV: ۹/۵ و AP: ۲/۴ میلی‌متر)، کانول (سرسوزن شماره‌ی ۲۳) یک میلی‌متر بالاتر از هسته‌ی VMH حیوان به طور یک طرفه کاشته شد. ۳-۵ روز پس از جراحی، داروها یا سالیین (۰/۵ میکرولیتر) درون هسته‌ی VMH توسط سرنگ Hamilton طی ۳۰ ثانیه تزریق شدند. در روز آزمایش، حیوانات

گروه آتروپین-کینپرول ($P < 0/001$) پایدار بود.

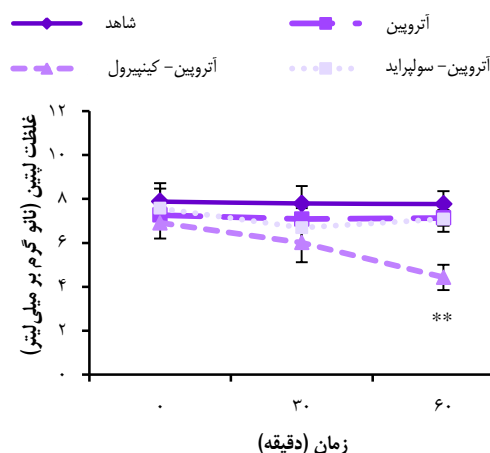
داده اند که فعال شدن مدار واگ در کمپلکس واگ پشتی، می تواند اثر مستقیم بر ذخیره‌ی انرژی داشته باشد. با توجه به این که هسته‌های هیپوتالاموسی به این مدار Project می کنند، این احتمال وجود دارد که Projection های دوپامینی هیپوتالاموس از طریق مسیر کولینرژیک واگ بتوانند تا حدودی سیگنال‌های هومئوستاتیک انرژی را تحت تأثیر قرار دهند.

در مطالعه‌ی حاضر، مشاهده شد که Projection های دوپامینی هسته‌ی و نرومدیال هیپوتالاموس از طریق مسیر واگ غلظت پلاسمایی لپتین و گلوکز را تحت تأثیر قرار می دهد. ارتباط بین فعالیت سیستم کولینرژیک و ترشح لپتین در چندین مطالعه گزارش شده است. تزریق داخل وریدی نئوستیگمین، مهار کننده‌ی کولین استراز، سطح پلاسمایی لپتین و RNA Messenger RNA (RNA) لپتین بافت چربی را افزایش می دهد و تزریق آتروپین مانع از افزایش لپتین توسط نئوستیگمین می شود (۱۵).

در مطالعه‌ی دیگر، تزریق داخل بطنی Cytidine 5'-diphosphocholine-choline (CDP)-کولین یا فعال کننده‌ی کولینرژیک باعث افزایش سطح لپتین سرم شد؛ در حالی که آتروپین و مکامیلاین این اثر را از بین بردند (۱۲). این مطالعه نشان داد که هر دو گیرنده‌ی نیکوتینی و موسکارینی در افزایش سطح سرمی لپتین نقش دارند. در مجموع، نتیجه‌گیری می شود وقتی سیستم پاراسیمپاتیک به طور فعال بر عملکرد بافت چربی تأثیر می گذارد، آنتاگونیست گیرنده‌ی کولین می تواند عملکرد افزایش سطح لپتین سرم را کاهش دهد.

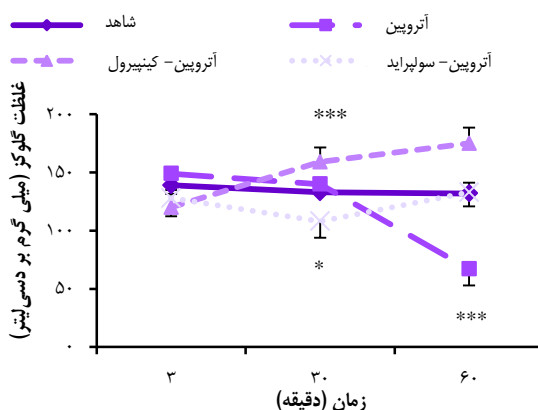
مطالعات قبلی نشان می دهند که تجویز کوتاه مدت و بلند مدت آگونیست های گیرنده‌ی D2، متابولیسم گلوکز و لیپید را در بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲ و هیپرپرولاکتینمی و در مدل حیوانات چاق بهبود می بخشد (۱۷-۱۶، ۵-۳). در این راستا، مشاهده گردید که مهار Dopamine D2 receptor (D2R) سطح گلوکز را افزایش می دهد که با داده های گزارش شده از افزایش رخداد دیابت در افراد تحت درمان با آنتاگونیست های گیرنده‌ی D2 همسو است (۱۹-۱۸).

از طرفی، درمان با کولین ها، یک سری اثرات متابولیکی دارد. برای مثال، تزریق داخل بطنی کولین، باعث افزایش غلظت گلوکز خون می شود (۲۰). تزریق CDP-کولین باعث هیپرگلیسمی وابسته به زمان و دز و نیز افزایش سطح سرمی انسولین و کورتیکوسترون می گردد (۲۲-۲۱). با توجه به نقش مهم انتقال کولینرژیک در کنترل گلوکز پلازما (۲۴-۲۳) انتظار می رود تزریق زیر جلدی آتروپین به شدت گلوکز پلازما را سرکوب کند؛ همان طور که در نتایج نیز مشاهده گردید. دیگر نتایج نشان داد که سطح گلوکز خون توسط کینپرول پیش تزریق با آتروپین افزایش یافت و سولپراید پیش تزریق



شکل ۱. اثرات مهار مسیر کولینرژیک بر تغییرات اعمال شده بر سطح لپتین پلازما توسط گیرنده‌های دوپامین ۲ هسته‌ی و نرومدیال هیپوتالاموس. هر منحنی نمایانگر میانگین \pm انحراف معیار برای ۶ موش می باشد. $P < 0/001$ ، **

کاهش سطح گلوکز خون در گروه آتروپین-سولپراید در زمان ۳۰ دقیقه مشاهده شد ($P < 0/038$)، اما در زمان ۶۰ دقیقه به سطح پایه یا سطح کنترل برگشت (شکل ۲).



شکل ۲. اثرات مهار مسیر کولینرژیک بر تغییرات اعمال شده بر سطح گلوکز پلازما توسط گیرنده‌های دوپامین ۲ هسته‌ی و نرومدیال هیپوتالاموس. هر منحنی نمایانگر میانگین \pm انحراف معیار برای ۶ موش می باشد. $P < 0/001$ ، ***؛ $P < 0/010$ ، *؛ $P < 0/050$ ، **

بحث

تا به امروز مشخص نشده است که Projection دوپامینی هیپوتالاموس، از طریق کدام مسیر عصبی بر سیگنال‌های هومئوستاتیک انرژی، مانند لپتین و گلوکز اثر دارند. مطالعات نشان

M3 باعث محافظت در برابر برخی انواع چاقی و همچنین، بهبود اختلالات گلوکز و هومئوستازی انرژی می‌شود (۲۶-۲۵). به علاوه، مهار گیرنده‌های موسکارتینی استیل کولین در تکمون شکمی، می‌تواند یادگیری مرتبط با غذا را در موش صحرایی مختل کند (۲۷). به طور کلی، نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان می‌دهد که سیگنالینگ دوپامین هیپوتالاموس ممکن است مکانیسمی را فعال کند که از طریق آن، اثرات واگ بر بافت چربی و سلول‌های پانکراس افزایش می‌یابد و باعث افزایش ترشح لپتین و بهبود کنترل گلوکز می‌گردد، اگر چه مطالعات بیشتری برای ارزیابی مکانیسم‌های (های) دخیل در تنظیم متابولیسم توسط دوپامین هیپوتالاموس نیاز است.

تشکر و قدردانی

مقاله‌ی حاضر بخشی از طرح پژوهشی مصوب دانشگاه علوم پزشکی اصفهان می‌باشد. نویسندگان این مقاله مراتب سپاس خود را از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان اعلام می‌دارند.

با آتروپین توانست در مرحله‌ی اولیه (در ۳۰ دقیقه) آن را کاهش دهد. سپس، در مرحله‌ی پایانی (در ۶۰ دقیقه) این میزان را به سطح پایه برگرداند.

به نظر می‌رسد مسیر واگ می‌تواند واسطه‌ی اثر گیرنده‌های D2 هیپوتالاموس بر سطح گلوکز پلاسما شود، اما احتمال می‌رود یک بازخورد (Feedback) منفی در کنترل گلوکز خون، تغییرات شدید گلوکز پلاسما را در شرایط کینیپیرول و سولپراید پیش تزریق با آتروپین جبران کند. در کینیپیرول پیش تزریق با آتروپین، هم فعال‌سازی گیرنده‌های VMHD2 و هم مهار کننده‌ی گیرنده‌های کولین، کاهش گلوکز ناشتا را تقویت می‌کنند و باعث فعال شدن مدار جبران کننده برای افزایش گلوکز پلاسما می‌شوند.

از آن جایی که در مطالعه‌ی حاضر آتروپین به صورت محیطی تزریق گردید، بنابراین گیرنده‌های استیل کولین موجود در مراکز پاداش نیز ممکن است در تنظیم ترشح لپتین و سطح گلوکز نقش داشته باشند؛ به طوری که گزارش شده است که فقدان گیرنده‌های

References

- Zhou QY, Palmiter RD. Dopamine-deficient mice are severely hypoactive, adipsic, and aphagic. *Cell* 1995; 83(7): 1197-209.
- Luo S, Luo J, Meier AH, Cincotta AH. Dopaminergic neurotoxin administration to the area of the suprachiasmatic nuclei induces insulin resistance. *Neuroreport* 1997; 8(16): 3495-9.
- Kok P, Roelfsema F, Frolich M, van PJ, Stokkel MP, Meinders AE, et al. Activation of dopamine D2 receptors simultaneously ameliorates various metabolic features of obese women. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2006; 291(5): E1038-E1043.
- Luo S, Liang Y, Cincotta AH. Intracerebroventricular administration of bromocriptine ameliorates the insulin-resistant/glucose-intolerant state in hamsters. *Neuroendocrinology* 1999; 69(3): 160-6.
- Cincotta AH, Meier AH, Cincotta M, Jr. Bromocriptine improves glycaemic control and serum lipid profile in obese Type 2 diabetic subjects: a new approach in the treatment of diabetes. *Expert Opin Investig Drugs* 1999; 8(10): 1683-707.
- Kok P, Roelfsema F, Frolich M, van Pelt J, Meinders AE, Pijl H. Activation of dopamine D2 receptors lowers circadian leptin concentrations in obese women. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91(8): 3236-40.
- Kim KS, Yoon YR, Lee HJ, Yoon S, Kim SY, Shin SW, et al. Enhanced hypothalamic leptin signaling in mice lacking dopamine D2 receptors. *J Biol Chem* 2010; 285(12): 8905-17.
- Mastronardi CA, Yu WH, Srivastava VK, Dees WL, McCann SM. Lipopolysaccharide-induced leptin release is neurally controlled. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98(25): 14720-5.
- Ghasemi M, Mehranfard N, Eliassi A, Alaei HA. Modulation of the plasma ghrelin level by intra-ventromedial hypothalamic microinjection of D2 receptors agonist and antagonist. *Neuropsychiatry (London)* 2018; 8(1): 89-95.
- Killgore WD, Ross AJ, Kamiya T, Kawada Y, Renshaw PF, Yurgelun-Todd DA. Citicoline affects appetite and cortico-limbic responses to images of high-calorie foods. *Int J Eat Disord* 2010; 43(1): 6-13.
- Sugino T, Yamaura J, Yamagishi M, Kurose Y, Kojima M, Kangawa K, et al. Involvement of cholinergic neurons in the regulation of the ghrelin secretory response to feeding in sheep. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 304(2): 308-12.
- Kiyici S, Basaran NF, Cavun S, Savci V. Central injection of CDP-choline suppresses serum ghrelin levels while increasing serum leptin levels in rats. *Eur J Pharmacol* 2015; 764: 264-70.
- Wu X, Gao J, Yan J, Owyang C, Li Y. Hypothalamus-brain stem circuitry responsible for vagal efferent signaling to the pancreas evoked by hypoglycemia in rat. *J Neurophysiol* 2004; 91(4): 1734-47.
- Verberne AJ, Sabetghadam A, Korim WS. Neural pathways that control the glucose counterregulatory response. *Front Neurosci* 2014; 8: 38.
- Ueda M, Tamaya N, Miura H, Kuzuya M, Hattori A, Muraguchi M, et al. Rise in plasma leptin levels after stimulation of hypothalamic cholinergic neurons by neostigmine in rats. *Drugs Exp Clin Res* 2001; 27(5-6): 185-92.
- de Leeuw van Weenen JE, Parlevliet ET, Schroder-van der Elst JP, van den Berg SA, Willems van DK, Romijn JA, et al. Pharmacological modulation of dopamine receptor D2-mediated transmission alters the metabolic phenotype of diet induced obese and diet resistant C57Bl6 mice. *Exp Diabetes Res* 2011;

- 2011: 928523.
17. Kuo DY. Co-administration of dopamine D1 and D2 agonists additively decreases daily food intake, body weight and hypothalamic neuropeptide Y level in rats. *J Biomed Sci* 2002; 9(2): 126-32.
 18. Buse JB, Cavazzoni P, Hornbuckle K, Hutchins D, Breier A, Jovanovic L. A retrospective cohort study of diabetes mellitus and antipsychotic treatment in the United States. *J Clin Epidemiol* 2003; 56(2): 164-70.
 19. Xu R, Parlow AF, Wang Y. The effects of dopamine and D2 receptor antagonists on pituitary hormone secretion are intact in mice lacking dopamine D2L receptor. *Brain Res* 2002; 939(1-2): 95-9.
 20. GURUN MS, Icol YO, Taga Y, Ulus IH. Hyperglycemia induced by intracerebroventricular choline: Involvement of the sympatho-adrenal system. *Eur J Pharmacol* 2002; 438(3): 197-205.
 21. Icol YO, Cansev M, Yilmaz MS, Hamurtekin E, Ulus IH. Intraperitoneal administration of CDP-choline and its cholinergic and pyrimidinergic metabolites induce hyperglycemia in rats: involvement of the sympathoadrenal system. *Arch Physiol Biochem* 2007; 113(4-5): 186-201.
 22. Cansev M, Icol YO, Yilmaz MS, Hamurtekin E, Ulus IH. Peripheral administration of CDP-choline, phosphocholine or choline increases plasma adrenaline and noradrenaline concentrations. *Auton Autacoid Pharmacol* 2008; 28(1): 41-58.
 23. Mason WT. Staining of the magnocellular nuclei of the rat hypothalamus by a monoclonal antibody directed against the alpha-subunit of the nicotinic cholinergic receptor. *Neurosci Lett* 1985; 59(1): 89-95.
 24. Michels KM, Meeker RB, Hayward JN. Differential distribution of muscarinic cholinergic and putative nicotinic cholinergic receptors within the hypothalamo-neurohypophysial system of the rat. *Neuroendocrinology* 1986; 44(4): 498-507.
 25. Maresca A, Supuran CT. Muscarinic acetylcholine receptors as therapeutic targets for obesity. *Expert Opin Ther Targets* 2008; 12(9): 1167-75.
 26. Yamada M, Miyakawa T, Duttaroy A, Yamanaka A, Moriguchi T, Makita R, et al. Mice lacking the M3 muscarinic acetylcholine receptor are hypophagic and lean. *Nature* 2001; 410(6825): 207-12.
 27. Sharf R, Ranaldi R. Blockade of muscarinic acetylcholine receptors in the ventral tegmental area disrupts food-related learning in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 2006; 184(1): 87-94.

Involvement of Cholinergic Pathway in Energy Homeostasis via Ventromedial Hypothalamic D2 Receptors

Maedeh Ghasemi¹, Nasrin Mehranfard², Mina Sadat Izadi³, Atefeh Rayatpour³, Hojjatallah Alaei⁴

Original Article

Abstract

Background: Studies indicate that dopamine, particularly via D2 receptors (D2R), has an important role in energy homeostasis. Our previous study demonstrated that hypothalamic D2Rs, through dorsal vagus complex, are involved in the regulation of ghrelin secretion. In present study, we evaluated whether vagus cholinergic system could play a role in the regulation of leptin and glucose plasma levels by hypothalamic ventromedial nucleus (VMH) D2Rs?

Methods: Canulation was performed into the VMH in Wistar rats (220-250 g). In experiment day, fasted rats (for 20-24 hours) received atropine (cholinergic antagonist, 5 mg/kg subcutaneously) or saline. Thirty minutes later, D2R agonist (Quinpirole, 0.5 µg) or antagonist (Sulpiride, 0.005 µg) and saline (0.5 µl) were injected into the VMH. Then, blood samples were collected 0, 30, and 60 minutes later, and plasma leptin and glucose levels were measured using enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kit and glucose oxidase method, respectively.

Findings: Plasma leptin significantly decreased in a time-dependent manner in atropine-Quinpirole group compared to control group ($P < 0.001$); while increase in glucose levels was time-dependently stable in atropine-Quinpirole group ($P < 0.001$). No significant change was observed in leptin levels in atropine-Sulpiride group compared to control group.

Conclusion: VMHD2Rs exert their effects on the regulation of leptin and glucose levels, at least partly, via vagus cholinergic pathway.

Keywords: Ventromedial hypothalamic nucleus, Dopamine D2 receptors, Nonneuronal cholinergic system, Atropine

Citation: Ghasemi M, Mehranfard N, Izadi MS, Rayatpour A, Alaei H. **Involvement of Cholinergic Pathway in Energy Homeostasis via Ventromedial Hypothalamic D2 Receptors.** J Isfahan Med Sch 2019; 36(504): 1389-94.

1- PhD in Physiology, Department of Physiology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

2- Assistant Professor, Neurophysiology Research Center, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran

3- MSc Student, Department of Physiology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

4- Professor, Department of Physiology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

Corresponding Author: Maedeh Ghasemi, Email: ghasemi.m@med.mui.ac.ir