تولید هورمون ۱۷، ۲۰ آلفا-دی‌هیدروکسی پروژسترون (17, 20αDHP) توسط بافتهای مختلف در ماهی طلایی و ماهی کپور معمولی

منصور ابراهیمی

دانشگاه شیراز، دانشکده دامپزشکی، صندوق پستی : ۱۷۳۱-۷۱۳۴۵

تاریخ دریافت :دی ۱۳۷۷ تاریخ پذیرش : مرداد ۱۳۷۸

چکیده

بافتهای مختلف ماهیچه، قلب، چشم، پیضه، خون و اسپرم ماهی طلایی و ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio & Carassius auratus*) جهت وجود و میزان فعالیت آنزیم ۲۰ آلفا هیدروکسی استروئید هیدروژنز (20αHSD) در تبدیل سوبسترا آلفا هیدروکسی پروژسترون (17P) نشاندار و مقادیر ۰، ۰/۱، ۱ یا ۱۰ میکروگرم سوبستراهای غیر نشاندار مورد مطالعه قرار گرفتند. میزان تبدیل سوبسترا به محصول ۱۷، ۲۰ آلفا دی‌هیدروکسی پروژسترون (17,20αP) بیش از ۳۰ درصد در ۱۰۰ میلی‌گرم چشم، قلب و پیضه، ۱۲ درصد در ۲۰ میکرولیتر خون و ۱۸ درصد در ۲۰ میکرولیتر اسپرم اما کمتر از ۵ درصد در ۱۰۰ میلیگرم از ماهیچه بود. ۱۷، ۲۰ آلفادی هیدروکسی پروژسترون تنها متابولیت ۱۷P در انکوباسیونهای بافتهای غیر گنادی بود. در بررسی انجام شده بر روی اجزاء چشم کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) هیچگونه فعالیت قابل توجه آنزیمی در لنز، مایع چشمی یا شبکیه یافت نشد. در این تحقیق رابطه احتمالی بین آنزیم ۲۰ آلفا و ۲۰ بتا دی‌هیدروکسی استروئید دهیدروژنز در ماهیان، آنزیم ۲۰ هیدروکسی استروئید دهیدروژنز و آنزیمهای احیا کننده آلدوزی و کتوزی مورد بحث قرار گرفت.

لغات کلیدی: هورمون ۱۷ - ۲۰ آلفا - دی‌هیدروکسی پروژسترون، ماهی طلایی، ماهی کپور معمولی

مقدمه

مطالعات آزمایشگاهی (in vitro) نشان داده‌اند که هورمون ۱۷، ۲۰ آلفادی‌هیدروک-

پروژسترون توسط تخمدان، بیضه و اسپرم کپور ماهیان، گربه ماهیان و سوف ماهیان تولید می‌گردد (Canario & Scott , 1989 ; Ashina *et al.*, 1993 ; Barry *et al.*, 1990 ; Kime, 1992 ; Kime *et al.*, 1992 ; Ebrahimi *et al.*, 1995 ; Kime *et al.*, 1993 ; Kime & Scott, 1993 ; Abdullah & Kime , 1994 ; Kime & Abdullah, 1994 ; Kime *et al.*, 1994 ; Tan *et al.*, 1995). بدلیل موجود نبودن آنتی‌بادی بر علیه ۱۷، ۲۰ آلفادی‌هیدروکسی پروژسترون، غلظت این هورمون در پلاسما کمتر اندازه‌گیری شده است (Canario & Scott ; Canario & Scott , 1990 , Zairin *et al.*, 1993 ; Scott & Sorensen , 1994 ; 1991). اگر چه غلظت‌های اندازه‌گیری شده در این مطالعات قابل مقایسه با اپی‌مر دیگر پروژسترون (۱۷، ۲۰ بتا - دی‌هیدروکسی پروژسترون) می‌باشد، ولی با این وجود به غیر از یافته‌های حاصل از ماهی پهن گونه *Limanda limanda* از خانواده Pleuronectidae شواهد کمی برای ارتباط مستقیم این هورمون با رسیدگی نهایی اووسیت‌ها وجود دارد (Canario & Scott , 1990). همچنین ۱۷، ۲۰ آلفا - دی‌هیدروکسی پروژسترون در مقایسه با ۱۷، ۲۰ بتا - دی‌هیدروکسی پروژسترون بطور قابل توجهی در آلفا رها شدن و شکسته شدن هسته تخمک (پدیده GVBD) در ماهیان پهن گونه *Limnada* و گونه *Pleuronectes platessa* مؤثر است (Canario & Scott , 1990) و پتانسیل آن بعنوان فرومون در کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) و ماهی طلایی (*Carassius auratus*) کم می‌باشد. اگر چه در کپور ماهیان باعث ایجاد پاسخ بویایی می‌شود (Irvine & Sorensen ; Sorensen *et al.*, 1990 , Sorensen & Scott , 1994 ; 1993).

فعالیت آنزیم‌های دخیل در بیوسنتز استروئیدها محدود به بافتهای جنسی یا اسپرم نبوده و نتایج حاصل نشان داده است که بعضی از بافتهای غیرجنسی آنزیمهای لازم را جهت تبدیل هورمونهای استروئیدی به متابولیت‌های دیگر را دارند. انکوباسیون پوست گربه ماهی آفریقایی وجود احیا کننده‌های ۵ آلفا، ۵ بتا و هیدروکسی استروئید دی هیدروژنز ۳ آلفا، ۱۱ بتا، ۱۷ بتا و ۲۰ بتا را نشان داده است. بعلاوه، حضور آنزیم دی‌هیدروژنز گلوکز UDP که نشاندهنده احتمال تولید استروئیدهای گلوکورونیده می‌باشد، مشخص شده است. در واقع، مقادیر زیادی ترکیبات الحاقی هورمونهای استروئیدی محلول در آب بخصوص ۵ بتا-دی‌هیدروتستوسترون و گلوکورونید

تستوسترون، در انکوباسیون آندروستندیون و تستوسترون پیدا شده که دلیل حضور ترانسفر از گلوکورونوزیل - UDP در پوست گربه ماهی است (Ali *et al.*, 1987). فعالیت آنزیم ۱۷ بتا-هیدروکسی استروئید دی‌هیدروژنز (17βHSD) در سلولهای خونی آزاد ماهیان، کپور ماهیان و گربه ماهیان نیز مشخص شده است (Mayer *et al.*, 1990 ; Schulz & Bluem , 1991). همچنین در بافتهای طحال، روده، مغز، کبد، کلیه و پوست قزل‌آلا فعالیت 17βHSD یافت گردیده و حدس زده شده است که استروئیدوژنز در بافتهای غیرجنسی ممکن است در تنظیم میزان هورمونهای استروئیدی موجود در پلاسما دخالت داشته باشند (Schulz & Bluem , 1991). تشکیل ترکیبات احیا شده ۵ آلفا و ۵ بتا، ۱۷ بتای هیدرکسیله و گلوکورونید در انکوباسیون آزمایشگاهی (in vitro) کلیه‌های ماهی سه خاره (Stickelbacks) نشان داده شده است (Borg *et al.*, 1992). تولید ۱۷ ۲۰ بتا-دی‌هیدروکسی پروژسترون توسط کلیه قدامی ماهی آزاد آتلانتیک تعیین گردیده است (Sangalag & Freeman , 1988).

فعالیت آنزیم 20αHSD در غدد جنسی کپور ماهیان بسیار قوی بوده و آنها قادر به احیای مقادیر زیادی از ۱۷ آلفا- هیدروکسی پروژسترون به ۱۷، ۲۰ آلفا- دی‌هیدروکسی پروژسترون هستند (Abdullah & Kime , 1994 ; Kime & Abdullah , 1994 ; Kime *et al.*, 1994 Ebrahimi *et al.*, 1995). مطالعات اخیر در پستانداران نشان دهنده مشابهت بین آنزیم 20αHSD و احیا کننده آلدوز بوده (Warren *et al.*, 1993) و ۸۵ درصد هومولوژی بین آنزیم 20αHSD بیضه خوک و احیا کننده کربونیل انسانی گزارش شده (Fanaka *et al.*, 1992) و یک رابطه نزدیک نیز بین ۲۰ آلفا هیدروکسی استروئید دی‌هیدروژنز تخمدانی خرگوش و تعدادی از آنزیمهای احیا کننده آلدوز و کتوز مشاهده شده است (Lacy *et al.*, 1993). بنابراین احتمال دارد که فعالیت بیش از حد مشاهده شده در انکوباسیون گنادهای ماهیان یک پدیده غیرطبیعی بوده که در اثر رها شدن آنزیمهای غیراختصاصی احیا کننده کتونی بعلت شرایط خاص انکوباسیونی بوجود آمده است. برای تأئید این فرضیه، فعالیت آنزیم 20αHSD در انکوباسیون غدد جنسی و بافتهای غیرجنسی ماهی طلایی اندازه‌گیری شد.

مواد و روشها

در این تحقیق مجموعاً ۲۷ عدد ماهی (سه عدد ماهی کپور معمولی *Cyprinus carpio* و ۲۴ عدد ماهی طلایی *Caracius auratus*) مورد مطالعه قرار گرفتند که از ۶ عدد ماهی طلایی بافت چشم، از ۶ عدد دیگر بافت قلب، ماهیچه، آبشش و نمونه خون و از ۱۲ عدد بافت گناد (۶ عدد ماده و ۶ عدد نر) تهیه گردید. بدلیل کوچک بودن چشم ماهی طلایی و نشان دادن فعالیت آنزیمی در چشم از سه عدد ماهی کپور که هم خانواده ماهی طلایی هستند بافت چشم جدا گردید. جهت تعیین محل دقیق فعالیت آنزیمی بخشهای مختلف چشم شامل عدسی، ۵۰ میکرولیتر از مایع داخل چشم (زجاجیه)، بافت شبکیه و ۲۰ میلی‌گرم از باقیمانده چشم مورد آزمایش قرار گرفتند. برای تکرار آزمایش از بافتهای ۱۲ عدد ماهی طلایی که گنادهای آنها برداشته شده بود نیز استفاده شد. ماهیهای طلایی بعد از خریداری در طول فصلهای پائیز و زمستان در تانک آب شیرین نگهداری شدند.

قبل از کشتن ماهیان نر با فشار دادن ناحیه شکمی از آنها مایع اسپرمی (شیرابه) تهیه شد و سپس با استفاده از سرنگ هپارینه نمونه‌های خون از رگ خلفی گرفته و پس از سانتریفوژ کردن، پلاسمای آنها تهیه گردید. کره چشم بطور کامل، قلب، بیضه‌ها و بخشی از ماهیچه ناحیه شکمی برداشته شدند و جهت انکوباسیون استفاده گردیدند.

بیست میکرولیتر از مواد تناسلی و خون، قطعات ۱۰۰ میلی‌گرمی از قلب، ماهیچه، کره چشم و گنز کامل بطور مجزا برای سه ساعت، در درجه حرارت ۲۰ درجه سانتی‌گراد و در ۲ میلی‌لیتر محیط انکوباسیون ماهی طلایی (Jalabert *et al.*, 1976) که حاوی ۰، ۰/۱، ۱ یا ۱۰ میکروگرم در میلی‌لیتر ۱۷ آلفا - هیدروکسی پروژسترون نشان‌دار نشده و ۱۰ نانوگرم نشاندار شده بودند، نگهداری، سپس در مایع انکوباسیون در حرارت ۲۰ درجه سانتی‌گراد تا زمان تخلیص نگهداری شدند. استروئیدهای آزاد و ترکیبی براساس روش Ebrahimi *et al.*, 1995 جدا گشتند.

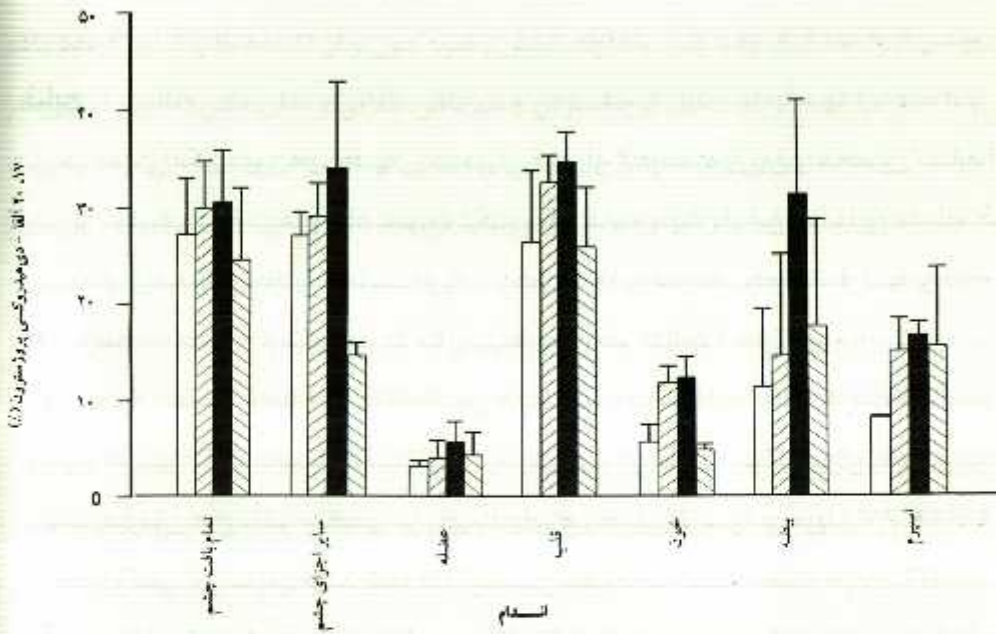
متابولیت‌های حاصله در سیستم کروماتوگرافی لایه نازک (TLC) در کلرفرم : متان (۵:۵۹) قرار گرفتند و فعالیت مواد نشاندار تعیین شد (Ebrahimi *et al.*, 1995). بخشهایی که فعال بودند با استفاده از هورمونهای نشاندار استاندارد جذب کننده اشعه ماوراء بنفش جدا گشتند

11β-hydroxytestosterone (F5); Androstenedione (F1); 17P (F2); Testosterone (F3))
; (17, 20αP/17, 20βP (F4) سپس F4 به دستگاه HPLC تزریق و مواد موجود در این بخش
شناسایی گردیدند.

نتایج

در تمامی انکوباسیون‌های بافتهای غیرجنسی کمتر از ۲ درصد هورمون و محصول نشاندا
پس از تخلیص استروئیدهای آزاد بصورت ترکیبی باقی مانده و بیش از این شناسایی نشدند. د
نمونه‌های بیضه ماهی طلایی، فعالیت بازیافت شده از ۱۷/۵ و ۹ درصد ماده نشاندار تنها به ۰/۵
۰/۹ درصد در حضور ۱۰ میکروگرم در میلی‌لیتر هورمون غیر نشاندار کاهش یافت.

محصول بدست آمده از F4 در انکوباسیون چشم، قلب و بیضه‌ها زیاد بود (۳۰٪)، اما در اسپر
و خون که تنها از یک پنجم بافت استفاده گردید پائین‌تر و در عضلات تنها به میزان ۵ درصد بود
غلظت هورمون هیچ تأثیر مشخصی بر روی بافتهای غیرجنسی نداشت ولی میزان ۱۷، ۲۰ آلفا
دی‌هیدروکسی پروژسترون تولید شده در انکوباسیون بیضه‌ها در کمترین غلظت سوبسترا کم بود
در ضمن ۱۱ - کتوتستوسترون نیز تولید شده که با افزایش غلظت سوبسترا (۱۰۰ میکروگرم د
میلی‌لیتر) به میزان -۱۱کتوتستوسترون حاصله به صفر درصد رسید (البته در یک ماهی هیچگون
آندروژنی تولید نشد). بیضه تنها ارگانی بود که محصولاتی بجز ۱۷، ۲۰ آلفا-دی‌هیدروکسی
پروژسترون و سوبسترای تغییر نیافته در آن تولید شد (شکل ۱). هنگامیکه اجزاء مختلف چشم
مورد بررسی قرار گرفت. تنها در انکوباسیون چشم پس از در آوردن لنز و مایع داخل آن فعالیت
آنزیمی (تبدیل سوبسترا به متابولیتهای جدید) مشاهده شد و در انکوباسیون لنز و مایع چشمی
هیچگونه تغییری حاصل نگردید. در انکوباسیون لنزها، مایع چشمی و یا شبکیه چشم ماهیهای
کپور معمولی هیچ متابولیتی بغیر از سوبسترا یافت نشد ولی در باقیمانده بافتهای چشمی ۱ تا ۵/
درصد تبدیل هورمون به ۱۷، ۲۰ آلفا - دی‌هیدروکسی پروژسترون مشاهده شد. فعالیت آنزیم د
ماهی کپور نسبت به ماهی طلایی پائین بود.



شکل ۱: تولید ۱۷، ۲۰ آلفا ـ دی‌هیدروکسی پروژسترون (درصد فعالیت بازیافت شده) و تأثیر غلظت‌های مختلف هورمون ۱۷P (۰ = ▨، ۰/۱ = ▨، ۱ = ■، ۱۰ = ▨ میلی‌گرم) در انکوباسیون بافتهای مختلف ماهی طلایی

بحث

مطالعات آزمایشگاهی ابزاری مهم در شناسایی مسیرهای استروئیدوژنز در همه مهره‌داران را فراهم کرده و بعلت نشاندادن آنزیمهای فعال در این مسیر از نظر فیزیولوژیک بسیار با ارزش هستند. در ماهیان اینگونه مطالعات برای مشخص کردن نقش آندروژنها و دهیدروکسی پروژسترونها مورد استفاده قرار گرفته‌اند (Kime , 1992). در این روش معمولاً بافتهای اختصاصی (نظیر گنادها و یا سایر اندامها) را در محیط انکوباسیون و تحت شرایط مختلف قرار داده و سپس

یا شناسایی محصولات حاصله مسیر آنزیمی فعال در بافت مشخص می‌شود. مطالعه حاضر نشان داد که بافتهای غیرجنسی همچون قلب، چشم، خون و حتی تا حدی ماهیچه‌ها توانایی تولید هورمونهای استروئیدی را دارند. اگر چه بدلیل در دسترس نبودن هورمون مورد نیاز (۱۷، آلفا - دی‌هیدروکسی‌پروژسترون) عملاً در شرایط بدن این پدیده اتفاق نمی‌افتد. وجود سوبسترای فوق (۲۰ نانوگرم در میلی‌لیتر) در پلاسمای ماهی طلایی ماده امکان سنتز ۱۷، ۲۰ - دی‌هیدروکسی پروژسترون توسط بافتهای غیرجنسی را محتمل می‌نماید (Scott & Sorensen , 1994).

مطالعات قبلی نشان دادند که در انکوباسیون غدد جنسی ماهی طلایی هورمون ۱۷، ۲۰ آلفا - دی‌هیدروکسی پروژسترون تولید شده است (Abdullah & Kime , 1994 ; Kime & Abdullah , 1994). نتایج حاصله به روشنی نشان دادند که هم چشم و قلب و تاحدی خون و ماهیچه‌ها قادر به تولید ۱۷، ۲۰ آلفا - دی‌هیدروکسی پروژسترون در شرایط آزمایشگاهی هستند. در همه بافتهای غیر جنسی ۱۷، ۲۰ آلفا - دی‌هیدروکسی پروژسترون تنها متابولیت حاصل از ۱۷، آلفا- دی‌هیدروکسی پروژسترون بوده اما در انکوباسیون بیضه‌ها ۱۱-کتوتستوسترون نیز به مقدار قابل توجهی در غلظت پائین سوبسترا تولید شد. استروئیدهای ترکیبی تنها به میزان سطح معنی‌دار بودن در غلظت کم سوبسترا تولید شد و تولید -۱۱کتوتستوسترون و نوع ترکیبی در این شرایط مشابه یافته‌های Abdullah & Kime , 1994 بود. در هیچکدام از نمونه‌های غیر جنسی میزان استروئید ترکیبی در حد قابل توجهی نبود. میزان ۱۷، ۲۰ آلفا - دی‌هیدروکسی پروژسترون تولید شده توسط اسپرم و خون کمتر از سایر اندامها بود اما میزان بافت استفاده شده در این دو حالت تنها یک پنجم سایر اندامها بوده و در مقام مقایسه میزان هورمونهای تولید شده در یک سطح بود. بالا بودن تبدیلات حتی در غلظت بالای هورمون در نمونه‌های قلب و چشم نشاندهندهٔ فعال بودن شدید آنزیم در این بافتها می‌باشد.

هدف اصلی این مطالعه مشخص کردن این نکته بود که آنزیم 20αHSD در ماهیان احیا کننده آلدوزی غیر اختصاصی است یا نه؟. این آنزیمها اگر غیراختصاصی باشند باید به مقادیر مشابه در همه بافتها و همه گونه‌ها یافت شوند. مطالعه دیگر که همزمان توسط همین نگارنده انجام گرفت (منتشر نشده) نشان داد که آنزیم فوق در هیچکدام از بافتهای غیر جنسی ازاد ماهیان وجو

نداشته و تنها آنزیم 20βHSD در گنادها و اسپرم این ماهیان فعال بوده و در تولید مثل نقش دارد.

Sargalang & Freeman , 1988 فعالیت بافتهای غیر جنسی (کلیه و احشاء) را در آزاد ماهیان مورد بررسی قرار داده و نشان دادند در اندامهای مذکور آنزیم 20βHSD و نه 20αHSD فعال بوده یعنی در آزاد ماهیان آنزیم 20βHSD فعال است و در کپور ماهیان آنزیم 20αHSD فعال می‌باشد که یافته‌های این مطالعه را تأئید می‌کند.

وجود فعالیت شدید آنزیم احیا کننده ۲۰ آلفا در کپور ماهیان سئوال برانگیز است زیرا اگر همانطور که در مورد قزل‌آلا نشان داده شده است آنها آنزیمهای غیر اختصاصی نیستند، بنابراین نقش آنها ممکن است در تولید هورمون ۱۷، ۲۰ آلفا - دی‌هیدروکسی پروژسترون در زمانهایی خارج از فصول تولید مثل (که میزان هورمون در پلاسما کافی است) باشد. این زمانها ممکن است مطابق اواخر زمان بلوغ غدد جنسی بوده و شاید این آنزیمها در تولید فرمونها از این طریق دخالت داشته باشند. ماهی طلایی ماده مقادیر زیادی فرمون در زمان آماده بودن برای تخم‌ریزی وارد آبهای اطراف می‌کند ولی میزان ۱۷، ۲۰ آلفا - دی‌هیدروکسی پروژسترون آزاد شده پس از تزریق HCG به ماهی از میزان ۱۷، ۲۰ آلفا - دی‌هیدروکسی پروژسترون بیشتر بوده است (Scott & Sorensen , 1994). پائین بودن فعالیت آنزیم در ماهی کپور نسبت به ماهی طلایی می‌تواند به دلیل فاصله زمانی ۲۸ ساعته بین صید و نمونه‌گیری باشد. تولید گسترده ۱۷، ۲۰ آلفا - دی‌هیدروکسی پروژسترون در ماهیان (Kime , 1993) ممکن است نشان‌دهنده این مطلب باشد که در بسیاری از گونه‌ها فعالیت آنزیم 20αHSD در هر دو جنس وجود داشته و ممکن است نقش آن در ماهیان نر و ماده متفاوت باشد. البته این فرضیات باید با مطالعات بیشتر روشنتر شوند.

اگر چه هدف اصلی این مطالعه بررسی احتمال تولید ۱۷، ۲۰ آلفا - دی‌هیدروکسی پروژسترون در بافتهای غیر جنسی بود ولی این گزارش از فعالیت هیدروکسی دی‌هیدروژنز در ماهیان نیست. مطالعات قبلی نشان داد که در سلولهای خونی ماهی آزاد، ماهی طلایی و گربه ماهی آندروستندیون به متابولیتهای ۱۷ - هیدروکسیله تبدیل می‌شود (Mayer *et al.*, 1990) و در سلولهای خونی، طحال، مغز، کبد، کلیه و پوست قزل‌آلای رنگین کمان فعالیت 17βHSD مشاهده

شده است (Schulz & Bluem, 1991).

سوبسترای انزیم احیا کننده آندوز گلوکز است که با غلظت بالایی در محیط انکوباسیون وجود داشت (۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) که این مقدار بسیار بالاتر از میزان هورمون ۱۷، ۲۰ آلفا- دی هیدروکسی پروژسترون توسط گنادها نقش داشته (Abdullah & Kime , 1994 ; Kime & Abdullah , 1994 : Kime *et al*., 199 تأئید کننده این فرضیه است که آنزیم 20αHSD تنها یک احیا کننده آلدوزی ساده نیست. با این وجود نشان داده شده است که این انزیم در پستانداران از نظر توالی اسیدهای آمینه به ترتیب ۷۸ درصد، ۷۵/۵ درصد، ۷۳/۱ درصد، ۷۵/۵ درصد و ۶۱/۲ درصد با آنزیمهای سنتز کننده پروستاگلندین ریه گاو، احیا کننده کلردکون انسانی، 3αHSD، احیا کننده PGD2 و P-crystalline رانا همولوژی داشته‌اند (Lacy *et al*., 1993). رابطه انزیم 20αHSD با آنزیم 3αHSD در موش جالب بوده زیرا این آنزیم بطور تجارتی از باکتری *Pseudomonas testosteron* تهیه می‌شود (Sigma H1506) و می‌توان براحتی آنرا بعنوان 20αHSD در تهیه ۱۷، ۲۰ آلفا- دی‌هیدروکسی پروژسترون از ۱۷، آلفا- دی‌هیدروکسی پروژسترون در آزمایشگاه مورد استفاده قرار داد. رابطه p-crystalline و احیا کننده آلدوزی لنز گاو ممکن است توجیه کننده فعالیت شدید در کره چشم باشد، اما مطالعات تکمیلی در همین بررسی بر روی بخشهای مختلف چشم نشان داد که فعالیت آنزیم با لنز، شبکیه و مایع چشمی ارتباط ندارد. رابطه نزدیک بین آنزیم 20αHSD تخمدانی در خرگوش و آنزیم سنتز کننده PGF2α در گاو جالب است زیرا هر دو ماده حاصل از این آنزیمها بعنوان فرمون عمل می‌کنند (Stacey , 1991).

با توجه به اینکه cDNA آنزیمهای 20αHSD بیضه‌های گاو، جفت انسان و تخمدان خرگوش از نظر ساختمانی یک آنزیم مشخص راکد می‌کنند این روند پیچیده‌تر می‌شود. همچنین آنزیم گاوی 20αHSD گاوی هورمون ۱۷، آلفا- دی‌هیدروکسی پروژسترون را نسبت به پروژسترون ترجیح داده در حالیکه آنزیم تخمدانی خرگوش پروژسترون را استفاده می‌نماید (Pineda *et al*., 1985 ; Lacy *et al*., 1993). مقایسه ژن یا توالی اسیدهای آمینه برای 20αHSD ماهی طلایی، 20βHSD آزاد ماهیان، 20αHSDs در پستانداران گوناگون و سایر آنزیمهای احیا کننده آندوز

برای روشن شدن مطلب ضروری بنظر می‌رسد.

اگرچه این مطالعه اطلاعاتی را در خصوص حضور فعالیت بالای آنزیم ۲۰- آلفاهیدروکسی استروئید دهیدروژناز در انکوباسیون غدد جنسی و اسپرم نشان داد ولی در حال حاضر هیچ توضیح کاملی برای نقش in vivo این آنزیم نمی‌توان ارائه داد.

منابع

Abdullah, M.A.S. and Kime, D.E. , 1994. Increased substrate concentration causes a shift from production of 11-oxygenated androgens to 17, 20- dihydroxy-progesterone during the in vitro metabolism of 17-hydroxyprogesterone by goldfish testes. General and Comparative Endocrinology. No. 96. pp.129-139.

Ali, S.A. ; Schoonen, W.G.E. ; Lambert, J.G.D. ; Van Den Hurk, R. and Van Oordt, P.G.W.J. , 1987. The skin of the male African catfish, *Clarias gariepinus*: A source of steroid glucuronides. General and Comparative Endocrinology. No. 66, pp.415-424.

Ashina, K. ; Aida, K. and Higashi, T. , 1993. Biosynthesis of 17α, 20α- dihydroxy-4-pregnen-3- one from 17α-hydroxyprogesterone by spermatozoa of the common carp, *Cyprinus carpio*. Journal of Expertimental Zoology. No. 255, pp.244-249.

Barry, T.P. ; Aoda, K. ; Okumura, T. and Hanyyu, I. , 1990. The shift from C-19 to C-21 steroid synthesis in spawning male common carp, *Cyprinus carpio*, is regulated by the inhibition of androgen production by progesterone produced by spermatozoa. Biology of Reproduction. No. 43, pp.105-112.

Borg, B. ; Mayer, I. ; Lambert, J. ; Granneman, J. and Schulz, R. , 1992. Metabolism of androstenedione and 11-ketotestosterone in the kidney of the three-spined stickleback, *Gasterosteus aculeatus*. General and Comparative Endocrinology. No

86, pp.248-256.

Canario, A.V.M. and Scott, A.P., 1989. Synthesis of 20α-hydroxylated steroics by ovaries of the dab (*Limanda limanda*). General and Comparative Endocrinology. No. 76, pp.147-158.

Canario, A.V.M. and Scott, A.P., 1990. Plasma levels of ovarian steroids, including 17α, 20β-dihydroxy-4-pregnen-3-one, 3β, 17α, 20α-trihydroxy-5β-pregnen, in female dabs (*Limanda limanda*) marine flatfish induced to mature and ovulate with human chorionic gonadotrophin. General and Comparative Endocrinology. No. 77, pp.177-191.

Canario, A.V.M. and Scott, A.P., 1991. levels of 17α, 20β-dihydroxy-4-pregnen-3-one, 3β, 17α, 20β-trihydroxy-5β-pregnen. and other sex steroids, in blood plasma of male dab, *Limanda limanda* (marine flatfish) injected with human chorionic gonadotropin. General and Comparative Endocrinology. No. 83, pp.258-264.

Ebrahimi, M.; Singh, P.B. and Kime, D.E., 1995. Biosynthesis of 17,20α- dihydroxy -4-pregnen-3-one, 17,20β-dihydroxy-4-pregnen-3-one, and 11-ketotestosterone by testicular fragments and sperm of the roach, *Rutilus rutilus*. General and Comparative Endocrinology. No. 100, pp.375-384.

Irvine, I.A.S. and Sorensen, P.W., 1993. Acute olfactory sensitivity of wild common carp, *Cyprinus carpio*, to goldfish hormonal sex pheromones is influenced by gonadal maturity. Canadian Journal of Zoology. No. 71, pp.2199-2210.

Jalabert, B., 1976. In vitro oocyte maturation and ovulation in rainbow trout (*Salmo gairdneri*), northern pike (*Esox lucius*) and goldfish (*Carassius auratus*). Journal of Fisheries Research Canada. No. 33, pp.974-988.

Kime, D.E. ; Scott, A.P. and Canario, A.V.M. , 1992. In vitro biosynthesis of steroids, including 11-deoxycortisol and 5α-pregnane-3β, 7α, 17,20β-tetrol, by ovaries of the goldfish *Carassius auratus* during the stage of oocyte final maturation. General and Comparative Endocrinology. No. 87, pp.375-384.

Kime, D.E. ; Bhattacharya, S. ; Koldras, M. and Bieniarz, K. , 1993. Steroidogenesis by ovaries and testes of the European catfish, the wels (*Silurus glanis*), in vitro. Fish Physiology and Biochemistry. No. 10, pp.389-398.

Kime, D.E. , 1992. Progesterone metabolism by ovaries of roach (*Rutilus rutilus* L.). Fish Physiology and Biochemistry. No. 9, pp.497-504.

Kime, D.E. and Scott, A.P. , 1993. In vitro sythesis of 20α-reduced and of 11- and 21-oxygenated steroids and their sulfates by testes of the goldfish (*Carassius auratus*). Testicular synthesis of corticosteroids. Fish Physiology and Biochemistry. No. 11, pp.287-292.

Kime, D.E. ; Abdullah, M.A.S. ; Sokolowska Mikolajczyk, M. and Epler, P. , 1994. Substrate concentration affects the in vitro metabolism of 17-hydroxy progesterone by ovaries of the carp, *Cyprinus carpio*. Fish Physiology and Biochemistry. No. 13, pp.317-324.

Kime, D.E. and Abdullah, M.A.S. , 1994. The in vitro metabolism of 17- hydroxy progesterone by ovaries of the goldfish, *Carassius auratus* is affected by substrate concentration. General and Comparative Endocrinology. No. 95, pp.109-116.

Lacy, W.R. ; Washenick, K.J. ; Cook, R.G. and Dunbar, B.S. , 1993. Molecular coning and expression of an abundant 20α-hydroxysteroid dehydrogenase activity. Molecular Endocrinology. No. 7, pp.58-66.

Mayer, I. ; Borg, B. and Schulz, R. , 1990. Conversion of 11-ketoandrostenedione to

11-ketotestosterone by blood cells of six fish species. General and Comparative Endocrinology. No. 77, pp.70-74.

Pineda, J.A. ; Salinas, M.E. and Warren, J.C. , 1985. Purification and characterization of 20α-hydroxysteroid dehydrogenase from bull testes. Journal of Steroid Biochemistry. No. 23, pp.1001-1006.

Sangalang, G.B. and Freeman, H.C. , 1988. In vitro biosynthesis of 17α, 20β-dihydroxy-4-pregnen-3- one by the ovaries, testes, and head kidneys of the Atlantic salmon *Salmo salar*. General and Comparative Endocrinology. No. 69, pp.406-415.

Schulz, R. and Bluem, V. , 1991. Extragonadal 17β-hydroxysteroid dehydrogenase activity in rainbow trout. General and Comparative Endocrinology. No. 82, pp.197-205.

Scott, A.P. and Sorensen, P.W. , 1994. Time course of release of pheromonally active gonadal steroid and their conjugates by avulatory goldfish. General and Comparative Endocrinology. No. 96, pp.309-232.

Sorensen, P.W. ; Hara, T.J. ; Stacey, N.E. and Dulka, J.G. , 1990. Extreme alfactory specificity of male goldfish to the preovulatory steroidal pheromone 17α, 20β-dihydroxy-4-pregnen-3- one. Journal of Comparative Physiology A Sensory Neural and Behavioral Physiology. No. 166, pp.373-384.

orensen, P.W. and Scott, A.P. , 1994. The evalution of hormonal sex pheromones in teleost fish: Poor correlation between the pattern of steroid release by goldfish and olfactory sensitivity suggests that these cues evolved as a result of chemical spying rater than signal specialization. Acta Physiologica Scandinavica. No. 152, pp.191-205.

Stacey, N. , 1991. Hormonal pheromones in fish: status and prospects. In "Proceedings of the fourth international symposium on the reproductive physiology of fish" (A.P. Scott, J.P. Sumpter, D.E. Kime and M.S. Rolfe, Eds.), UK. pp.177-181.

Tan, A.M.C. ; Lee, S.T.L. ; Kime, D.E. ; Chao, T.M. ; Lim, H.S. ; Chou, R. ; Lam, T.J. and Tan, C.H. , 1995. 17α, 20α-dihydroxy-4-pregnen-3-one, not its 20β isomer, is produced from 17α-hydroxyprogesterone by spermatozoa of secondary male groupers (*Epinephelus tauvina*) derived from females implanted with 17α-methyltestosterone. Journal of Experimental Zoology. No. 271, pp.462-465.

Tanaka, M. ; Ohno, S. ; Adachi, S. ; Nakajin, S. ; Shinoda, M. and Nagahama, Y. , 1992. Pig testicular 20β-hydroxysteroid dehydrogenase exhibits carbonyl reductase-like structure and activity. cDNA cloning of pig testicular 20β-hydroxysteroid dehydrogenase. Journal of Biological Chemistry. No. 267 pp.13451-13455.

Warren, J.C. ; Murdock, G.L. ; Ma, Y. ; Goodman, S.R. and Zimmer, W.E. , 1993 Molecular cloning of testicular 20α-hydroxysteroid dehydrogenase: identity with aldose reductase. Biochemistry. No. 32, pp.1401-1406.

Zairin, M.J. ; Asahina, K. ; Furukawa, K. and Aida, K. , 1993. Plasma steroid hormone profiles in HCG-injected male walking catfish *Clarias batrachus*. Zoological Science. No. 10, pp.329-336.

17, 20 α Dihydroxy Progesterone (17, 20 α DP) Production by Different Tissue in Common Carp (*Cyprinus carpio*) and Gold Fish (*Carasius auratus*)

Ebrahimi M.

Aquatic Research Group, School of Veterinary Medicine, Shiraz University
Shiraz, P.O.Box : 71345-1731 Iran

Received : January 1999 Accepted : July 1999

Key words : 17, 20α dihydroxy progestron, Gold fish (*Cyprinus carpio*), Common carp (*Carasius auratus*), Iran

ABSTRACT

Different tissue (muscle, heart, eye, testis and blood) and sperm from Common carp and Gold fish, in order to evaluate activity of 20α hydroxy steroid Dihydrogenase (20α HSD) enzyme to convert radiactive 17α HP and amount of 0.01, 1 or 10^{mg} of nonradioactive hormones, were studied. Converting of substra to 17, 20α DHP was more than 30% in 100^{mg} of eye, heart and testis tissue, 12% in 20^{cc} blood and 18% in 20^{cc} sperm, but it was less than 5% in 100^{mg} of muscle tissue.

17, 20α DHP was the only metabolite in non gonadal tissues incubations no significant enzyme activity was found in lense-eyeball fluid and retin of common carp. Possible relationship between 20α and 20β dihydroxy steroid dehydrogenase enzymes in fish, 20 hydroxy steroid dehydrogenase and aldo and Keto reductase enzymes has been discussed.