Archive of SID

اثر برهم کنش گرلین و آنالوگ ماده P بر فعالیت محور تیروئیدی در موشهای صحرایی

همایون خزعلی* و فریبا محمودی

تهران، دانشگاه شهید بهشتی، دانشکده علوم زیستی

تاریخ دریافت: ۸۶/۵/۲ تاریخ پذیرش: ۸۸/۵/۱۰

چکیده

گرلین سبب افزایش اشتها و وزن بدن می شود. آنالوگ ماده P به نام [D-Arg-1, D-phe-5, D-Trp-7,9, Leu-11] Substance-P سبب مهار اثر تحریکی گرلین بر اشتها و وزن بدن می گردد. چون تغییرات هورمونهای تیروئیدی نیز در تنظیم وزن بدن نقش دارند، بنابراین، اثر دزهای مختلف گرلین و اثر برهم کنش گرلین و آنالوگ ماده P بر فعالیت محور تیروئیدی بررسی می شود. سی وشش عدد موش صحرایی در ٤ گروه، دزهای مختلف گرلین (۱، ۵ یا ۱۰ nmol) یا سالین و چهل عدد موش صحرایی در ٤ گروه تزریق همزمان گرلین (۵ nmol) و دزهای مختلف آنالوگ ماده P (۵، ۱۰، ۲۰ nmol) را از طریق تزریق درون بطنی دریافت کردند. نمونه های خونی جمع آوری شده و با RIA مورد بررسی قرار گرفتند. تزریق درون بطنی ۵ و ۱۰ nmol گرلین سبب کاهش معنی دار هورمونهای تیروئیدی در مقایسه با سالین شد و برهم کنش گرلین و آنالوگ ماده P نشان داد که ۲۰ nmol آنالوگ ماده P اثر مهاری گرلین بر فعالیت محور تیروئیدی را بلوکه می کند .

واژه های کلیدی: گرلین، آنالوگ ماده P، هورمونهای تیروئیدی

* نویسنده مسئول، تلفن تماس: ۰۹۱۲۱۲۵٤۰٤۱ پست الکترونیکی: Tabeshyarnoor@yahoo.com

مقدمه

محور هیپوتالاموس- هیپوفیز- تیروئید از طریق هورمونهای تیروئیدی نقش مهمی در تنظیم متابولیسم و هومئوستاز انرژی ایفا می کند. مشخص شده است فاکتورهای عصبی، هورمونی و محیطی متعددی با هم برهم کنش می‌کنند تا ترشح هورمونهای تیروئیدی و در نتیجه وزن بدن تعدیل شود.

گرلین که توسط ژن موجود بر روی بازوی بزرگ کروموزم شماره ۳ کد می شود، پپتید ۲۸ اسیدآمینه ای با وزن مولکولی ۳۳۷۰ دالتون در انسان (۳۳۱٤ دالتون در موش صحرایی) می باشد، که در سرین شماره ۳ خود توسط یک اسید چرب ۸ کربنه اسیله شده است (۲۲ و ۲۳). به نظر می رسد، این اسیلاسیون برای عملکرد گرلین ضروری است. گرلین برای اولین بار در سال ۱۹۹۹ توسط کوجیما و همکارانش از معده موش صحرایی جداسازی شد و به عنوان لیگاند درونی برای گیرنده GHSR-Ia (growth hormone secretagogues receptor) مطرح گردید (۲۲، ۲۳ و ۲٦). گرلین به هنگام گرسنگی به مقدار زیادی از سلولهای XA/ Like غدد اکسینتیک معده و به مقدار اندکی از سایر قسمتهای دستگاه گوارش مثل دئودئوم، ژژنوم، ایلئوم و کولون و همچنین، از سایر اندامهای بدن مثل پانکراس، هیپوتالاموس، هیپوفیز، جفت، سلولهای لیدیگ، سلولهای سرتولی و گلومرول های کلیه سنتز می شود (٦، ۱۲، ۱۷ و ۲۲). مطالعات نشان داده است گرلین علاوه بر اعمال فیزیولوژیکی مختلف، از طریق اتصال به گیرنده GHSR-Ia و فعال کردن آنزیم فسفولیپاز C و در نتیجه افزایش اینوزیتول تری فسفات و کلسیم درون سلولی سبب افزایش ترشح هورمون رشد می شود (۲۲). گرلین همچنین، از طریق اتصال به گیرنده GHSR-Ia سبب افزایش بیان ژن نوروپپتیدهای (agouti-related-peptide)

www.SID.ir

Archive of SID

AgRPو NPY (neuropeptide-Y) شده و از طریق مسیر AgRP/NPY با دو مکانیسم افزایش سیگنالهای گرسنگی توسط NPY و کاهش سیگنالهای ضد اشتهایی سیستم ملانوکورتین به وسیله AgRP سبب افزایش اشتها و وزن بدن می شود (۱۹، ۲۹ و ۳۰). پیشنهاد شده است نوروترانسمیترهای مختلف ممکن است در عمل فیزیولوژیکی گرلین دخالت داشته باشند که ماده P یکی از این نوروروترانسمیترها است (۵، ١٤ و ١٥).

ماده P نوروپپتید ۱۱ اسید آمینه ای است که در سیستم عصبی محیطی و مرکزی به عنوان نوروترانسمیتر ، نورومدیولاتور و یا نوروهورمون عمل می کند. این پپتید برای اولین بار در سال ۱۹۳۱ توسط Von Euler و Gaddum از عصاره بافتی مغز و روده که سبب تحریک انقباض ماهیچه صاف روده در شرایط in vitro می‌شد جداسازی گردید و به عنوان لیگاند درونی برای گیرنده NK_1 مطرح شد (۳ و ۲۸). مطالعات نشان داده است نورونهای ماده P و گرلین علاوه بر نواحی مختلف بدن در هسته کمانی (ARC) و هسته پاراونتریکولار (PVN) هیپوتالاموس نیز واقع شده اند. ماده P سبب انتقال درد، ایجاد افسردگی و استرس (۲۵)، تحریک رفلکس استفراغ (١٦)، افزایش ترشح بزاق (۲۷) ، کاهش ترشح هورمون رشد (٤) و کاهش اشتها می گردد. همچنین مشخص شده است که آنالوگ ماده P به نام [D-Arg-1, D-phe-5, D-Trp-7,9, Leu-11] Substance-P به عنوان آنتاگونیست و یا آگونیست معکوس گیرنده GHSR-Ia عمل کرده و با مهار این گیرنده سبب مهار اثر تحریکی گرلین بر تخلیه معده، اشتها و وزن بدن می شود (۵، ١٤ و ١٥).

از آنجا که علاوه بر تغییرات میزان اشتها، تغییرات هورمونهای تیروئیدی نیز نقش مهمی در تنظیم متابولیسم و وزن بدن ایفا می کنند به طوری که کاهش هورمونهای تیروئیدی منجر به افزایش وزن بدن و برعکس، افزایش آنها منجر به لاغری می گردد. بنابراین، هدف از این تحقیق، تعیین اثر دزهای مختلف گرلین از طریق تزریق درون بطنی مغز بر میانگین غلظت پلاسمایی هورمون TSH و هورمونهای تیروئیدی و همچنین، بررسی اثر برهم کنش گرلین و آنالوگ ماده P بر فعالیت محور تیروئیدی می باشد.

مواد و روشها

واحدهای آزمایشی: موشهای صحرایی نر بالغ (n =٧٦) از نژاد Wistar (خریداری شده از مرکز تحقیقات علوم اعصاب دانشگاه شهید بهشتی) به وزن ۲۰۰ g الی ۲۵۰ که در شرایط استاندارد (دمای ۲ ± ۲۲ درجه سانتی گراد و چرخه ۱۲ ساعت روشنایی/ تاریکی با شروع روشنایی در ساعت ۷ صبح) نگهداری می شدند برای آزمایش انتخاب شدند. در تمام مدت آزمایش آب و غذا آزادانه در اختیار حیوانات قرار گرفت.

کانول گذاری داخل بطنی و عمل تزریق: عمل جراحی تحت بیهوشی با تزریق داخل صفاقی مخلوطی از کتامین (۱۰۰ mg/ kg BW) و زایلسین (۱۵ mg/ kg BW) انجام شد. کانول ساخته شده از سرسرنگ تزریقی gauge ۲۲ با استفاده از دستگاه استرئوتاکسیک و باکمک سه عدد پیچ عینک و سیمان دندانپزشکی در سطح جمجمه تثبیت شد (۲۱ و ۳۰). بر اساس اطلس واتسون و پاکسینوس، میله مربوط به دندان پیشین فوقانی، mm ۳/۳ پایین تر از خط مربوط به میله های گوشی و نوک کانول در مختصات بطن جانبی راست (AP = −۰/۸ mm، LA = ١/٦ mm، DV = ۳/۲ mm) قرار گرفت. حیوانات بعد از جراحی به قفسهای انفرادی برگردانده شدند و به آنها یک هفته اجازه بهبودی داده شد. گرلین و آنالوگ ماده P (تهیه شده از شرکت تابشیار نور) در سالین ۰/۹ درصد حل شدند. در روز هفتم ۵ µl سالین یا ۵ µl از دزهای مختلف گرلین یا آنالوگ ماده P با استفاده از سرسرنگ دندانپزشکی gauge ۲۷ که از طریق لوله رابط پلی اتیلنی به سرنگ هامیلتون ۱۰ µl وصل شده بود صورت گرفت. نمونه های خونی

www.SID.ir

Archive of SID

۲۰ دقیقه بعد از عمل تزریق از طریق بریدن سر حیوان جمع آوری گردید. برای جلوگیری از انعقاد سریع نمونه های خونی از محلول هپارین استفاده شد. نمونه‌های پلاسمایی با استفاده از دستگاه سانتریفوژ به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۳۵۰۰ rpm جدا شده و در دمای ۲۰ – درجه سانتی گراد تا زمان تجزیه آزمایشگاهی برای تعیین غلظتTSH، T_3 و T_4 نگهداری شدند. در پایان مطالعه، مغزحیوانات خارج شد و به مدت ۲ هفته در فرمالین ۱۰ درصد قرار گرفت. محل صحیح کانول گذاری از طریق برش گیری (با استفاده از دستگاه برش گیری ویبریو اسلایز در انیستیتو پاستور) تأیید شد و تنها نمونه هایی که عمل کانول گذاری به طور صحیح انجام گرفته بود برای آنالیز آماری استفاده شدند.

سنجش هورمونهای TSH، T_3 و T_4 : غلظت TSH ، T_3 و T_4 نمونه های پلاسمایی جمع آوری شده با استفاده از روش دقیق رادیوایمنو اسی RIA و با استفاده از کیتهای سنجشTSH ، T_3 و T_4 مربوط به موشهای صحرایی (تهیه شده از شرکت تابشیار نور) و با استفاده از دستگاه shaker و دستگاه گاما کانتر و فرمولهای ویژه تعیین غلظت این هورمونها تعیین شد.

آنالیز آماری: برای تمام داده ها میانگین، انحراف معیار و اشتباه معیار محاسبه شدند. داده ها با استفاده از آزمون T-test جفت نشده و آزمون ANOVA و نرم افزار SPSS آنالیز شدند. مقایسه میانگین داده ها با آزمون دانکن بررسی شد. در تمام آنالیزهای آماری انجام شده نتایج با $P< 0.05$ معنی دار گزارش شدند.

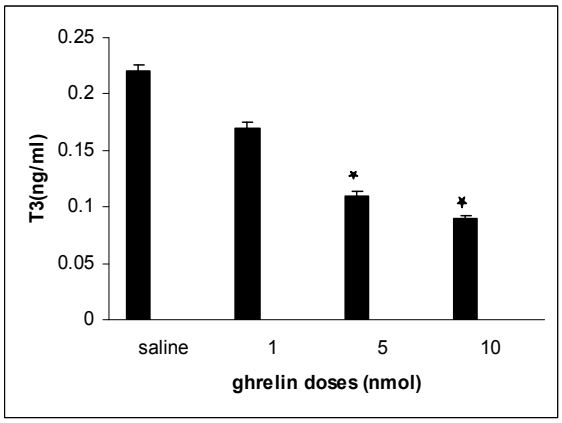
نتایج

در این تحقیق، ابتدا اثر دزهای مختلف گرلین بر فعالیت محور تیروئیدی بررسی شد. سی و شش عدد موش صحرایی در ٤ گروه (در هر گروه n =۹) به ترتیب سالین یا ۱، ۵ و یا ۱۰ nmol گرلین را در حجم ۵ µl در مراحل اولیه فاز روشنایی (ساعت ۹- ۸) در مدت یک دقیقه از طریق تزریق درون بطنی مغز (ICV) دریافت کردند. سپس نمونه های خونی در ۲۰ دقیقه بعد از تزریق با بریدن سر حیوان جمع آوری شدند. زمان خونگیری و دز های استفاده شده بر اساس تحقیقات پیشین که کاهش فعالیت محور تیروئیدی را به دنبال تزریق درون بطنی AgRP و NPY گزارش داده بودند انتخاب شد (۸، ۹ و ۲۱). نتایج نشان داد که تزریق ۱ nmol گرلین در مقایسه با گروه سالین تغییری در میانگین غلظت پلاسمایی هورمونهای تیروئیدی ایجاد نکرد. ولی ۵ nmol گرلین میانگین غلظت پلاسمایی هورمونهای TSH، T_3 و T_4 را به ترتیب به میزان ۳۷/۵۰ درصد ، ۵۰ درصد و ۵۵/٤۱ درصد و ۱۰ nmol گرلین به ترتیب به میزان ٤۵/۸٤ درصد ، ۵۹/۱۰ درصد و ٦٦/۳۷ درصد در مقایسه با گروه سالین در ۲۰ دقیقه بعد از تزریق کاهش داد که این کاهش ایجاد شده در میانگین غلظت پلاسمایی هورمونهای تیروئیدی توسط ۵ یا ۱۰nmol گرلین اختلاف معنی داری با گروه سالین داشت. همچنین، بین دز ۵ و ۱۰nmol نسبت به دز ۱ nmol اختلاف معنی داری مشاهده شد ولی بین دز ۵ و ۱۰ nmol اختلاف معنی داری مشاهده نشد.(شکل ۳-۱).

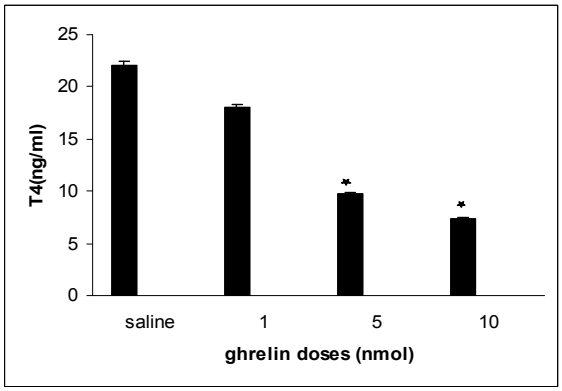
شکل ۱- بررسی اثر دزهای مختلف گرلین(nmol) بر میانگین غلظت پلاسمایی هورمون TSH در مقایسه با گروه سالین($P<0.05$ معنی دار گزارش شده است). دزهای ۵ وnmol ۱۰ گرلین میانگین غلظت TSH را در مقایسه با گروه سالین به طور معنی داری کاهش دادند ولی از نظر میزان کاهش بین دز ۵ و nmol ۱۰ اختلاف معنی داری مشاهده نشد.

www.SID.ir

Archive of SID

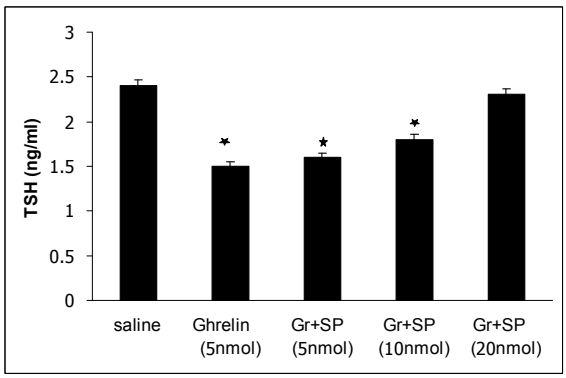


شکل ۲- بررسی اثر دزهای مختلف گرلین(nmol) بر میانگین غلظت پلاسمایی هورمون T_3 در مقایسه با گروه سالین($P<0.05$ معنی دار گزارش شده است). دزهای ۵ و۱۰ nmol گرلین میانگین غلظت T_3 را در مقایسه با گروه سالین به طور معنی داری کاهش دادند ولی از نظر میزان کاهش بین دز ۵ و۱۰ nmol اختلاف معنی داری مشاهده نشد.



شکل ۳- بررسی اثر دزهای مختلف گرلین(nmol) بر میانگین غلظت پلاسمایی هورمون T_4 در مقایسه با گروه سالین($P<0.05$ معنی دار گزارش شده است). دزهای ۵ و۱۰ nmol گرلین میانگین غلظت T_4 را در مقایسه با گروه سالین به طور معنی داری کاهش دادند ولی از نظر میزان کاهش بین دز ۵ و ۱۰ nmol اختلاف معنی داری مشاهده نشد.

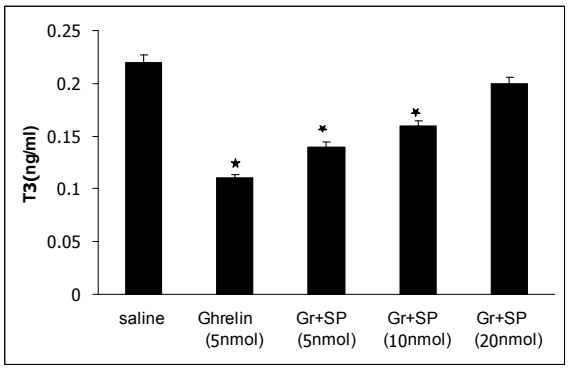
همچنین، برای بررسی اینکه آیا احتمال دارد آنالوگ ماده P اثر مهاری گرلین بر فعالیت محور تیروئیدی را بلوکه کند اثر برهم کنش گرلین و آنالوگ ماده P بر فعالیت محور تیروئیدی مورد بررسی قرار گرفت. چهل عدد موش صحرایی در ٤ گروه (در هر گروه ۱۰= n) تزریق همزمان گرلین (۵ nmol) و آنالوگ ماده P (۵، ۱۰ یا ۲۰ nmol) را در حجم ۵ µl در مراحل اولیه فاز روشنایی (ساعت ۹- ۸) در مدت یک دقیقه از طریق تزریق درون بطنی مغز (ICV) دریافت کردند. دزهای استفاده شده برای آنالوگ ماده P بر اساس تحقیقات قبلی که افزایش فعالیت محور تیروئیدی را به دنبال تزریق درون بطنی آنالوگ ماده P نشان داده بودند انتخاب شدند (۱). سپس نمونه های خونی بعد با بریدن سر حیوان جمع آوری شدند. تزریق ۵ یا ۱۰nmol آنالوگ ماده P اثر مهاری گرلین بر فعالیت محور تیروئیدی را به طور معنی داری بلوکه نکرد با تزریق ۵nmol آنالوگ ماده P غلظت پلاسمایی هورمونهای TSH، T_3 و T_4 به ترتیب به میزان ۳۷/۵۰ درصد ، ۳٦/۳۷ درصد و ٤۸/۱۹ درصد و با تزریق ۱۰nmol آنالوگ ماده P به ترتیب به میزان ۲۵ درصد ، ۲۷/۲۸ درصد و ۳۰/۹۱ درصد در مقایسه با سالین کاهش نشان داد. ولی با تزریق nmol ۲۰ آنالوگ ماده P غلظت هورزمونهای تیروئیدی و TSH در مقایسه با سالین کاهش معنی دار نشان ندادند. به عبارت دیگر تزریق nmol ۲۰ آنالوگ ماده P اثر مهاری گرلین بر فعالیت محور تیروئیدی را به طور کامل بلوکه کرد(شکل ٦-٤).



شکل ٤- اثر تزریق همزمان گرلین (Gr) و دزهای مختلف آنالوگ ماده P (SP) بر میانگین غلظت پلاسمایی هورمون TSH در مقایسه با سالین ($P<0.05$ معنی دار گزارش شده است). با تزریق همزمان nmol ۵ گرلین و ۵ یا nmol ۱۰ آنالوگ ماده P غلظت هورمون TSH در مقایسه با سالین به طور معنی داری کاهش یافت و ۵ یا nmol ۱۰ آنالوگ ماده اثر مهاری گرلین بر TSH را بلوکه نکرد. ولی با تزریق همزمان nmol ۵ گرلین و nmol ۲۰ آنالوگ ماده P در مقایسه با گروه سالین کاهش معنی داری در غلظت هورمون TSH مشاهده نشد و nmol ۲۰ آنالوگ ماده P اثر مهاری گرلین را بلوکه کرد.

www.SID.ir

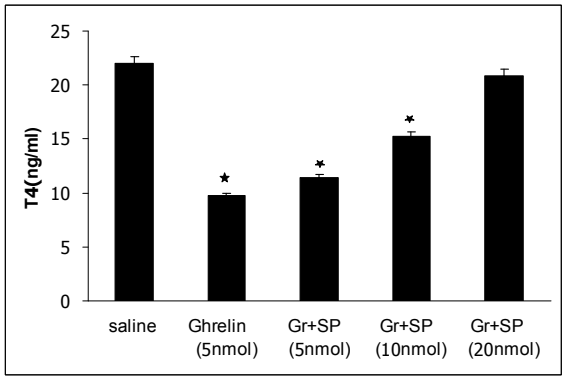
Archive of SID



شکل ۵- اثر تزریق همزمان گرلین (Gr) و دزهای مختلف آنالوگ ماده P (SP) بر میانگین غلظت پلاسمایی هورمون T_3در مقایسه با سالین ($P<0.05$ معنی دار گزارش شده است). با تزریق همزمان ۵ nmol گرلین و ۵ یا ۱۰ nmol آنالوگ ماده P غلظت هورمون T_3 در مقایسه با سالین به طور معنی داری کاهش یافت. ولی با تزریق همزمان ۵ nmol گرلین ۲۰ nmol آنالوگ ماده P در مقایسه با گروه سالین کاهش معنی داری در غلظت هورمون T_3 مشاهده نشد.

بحث

نتایج حاصل از این تحقیق، نشان داد گرلین باعث کاهش معنی دار میانگین غلظت پلاسمایی هورمونهای TSH، T_3 و T_4 می شود. بنابراین، ممکن است گرلین علاوه بر افزایش اشتها و افزایش هورمون رشد از طریق کاهش هورمونهای تیروئیدی و متابولیسم پایه بدن نیز در ایجاد چاقی نقش مهمی ایفا کند.



شکل ٦- اثر تزریق همزمان گرلین (Gr) و دزهای مختلف آنالوگ ماده P (SP) بر میانگین غلظت پلاسمایی هورمون T_4 در مقایسه با سالین ($P<0.05$ معنی دار گزارش شده است). با تزریق همزمان ۵ nmol گرلین و ۵ یا ۱۰ nmol آنالوگ ماده P غلظت هورمون T_4 در مقایسه با سالین به طور معنی داری کاهش یافت. ولی با تزریق همزمان ۵ nmol گرلین ۲۰ nmol آنالوگ ماده P در مقایسه با گروه سالین کاهش معنی داری در غلظت هورمون T_4 مشاهده نشد.

کاهش فعالیت محور تیروئیدی توسط گرلین احتمال دارد به دلیل تداخل عمل پپتیدهای مختلف مغزی با اثرات گرلین باشد. مطالعات نشان داده است که گرلین سبب افزایش بیان ژنهای AgRP و NPY در هسته کمانی هیپوتالاموس(ARC) می شود(۱۹). چون نورونهای NPY و AgRP از هسته ARC به طور مستقیم بر روی نورونهای TRH هسته پاراونتریکولار هیپوتالاموس(PVN) که جایگاه اصلی نورونهای TRH می باشد منشعب شده و بر روی آنها گیرنده دارند و تزریق درون بطنی این پپتیدها، غلظت هورمونهای تیروئیدی ،TSH و TRH را کاهش می دهد (۸، ۹، ۲۰ و ۲٤) بنابراین، ممکن است گرلین با افزایش AgRP و NPY در هیپوتالاموس، سبب کاهش فعالیت محور تیروئیدی شود. مکانیسم احتمالی دیگر ممکن است به دلیل اثر تحریکی گرلین بر فعالیت محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-آدرنال (H-P-A) و ترشح نوروترانسمیتر گاما آمینوبوتیریک اسید (GABA) باشد. گرلین سبب افزایش ترشح نوروترانسمیتر GABA از نورونهای AgRP و NPY هیپوتالاموس شده و GABA نیز به نوبه خود سبب افزایش ترشح هورمون آزادکننده کورتیکوتروپین (CRH) از هیپوتالاموس و کورتیزول از غده فوق کلیوی می گردد. چون تعدادی از مطالعات کاهش میانگین غلظت هورمونهای تیروئیدی توسط GABA (۲ و ۱۰) یا CRH و کورتیزول را نشان داده اند(۱۳ و ۱۸) بنابراین، بخشی از اثر مهاری گرلین بر فعالیت محور تیروئیدی را می توان تا حدودی به این مکانیسم نسبت داد. همچنین، اثر آنتاگونیستی AgRP بر گیرنده های هورمون تحریک کننده آلفا ملانوسیت(αMSH) نیز ممکن است در عمل گرلین نقش داشته باشد. مشخص شده است نورونهای αMSH از هسته ARC بر روی نورونهای TRH هسته PVN هیپوتالاموس منشعب شده و تزریق درون بطنی آن سبب افزایش هورمونهای تیروئیدی می شود (۷) . چون AgRP به عنوان آنتاگونیست گیرنده های αMSH عمل می کند (۸ و

www.SID.ir

Archive of SID

۱۱) بنابراین، ممکن است گرلین با افزایش AgRP و عمل آنتاگونیستی آن نیز سبب کاهش هورمونهای تیروئیدی شود. از آنجا که، دوپامین، گالانین، کاتکول آمینها (اپی نفرین و نور اپی نفرین) و ... از جمله نوروترانسمیترهای مؤثر در تنظیم متابولیسم و هومئوستازی انرژی می باشند و نورونهای آنها به طور مستقیم بر روی نورونهای TRH هسته PVN منشعب شده است و گرلین سبب تغییر در میزان این نوروترانسمیترها می گردد (۱۱) احتمال دارد گرلین از طریق این نوروترانسمیترها نیز بر فعالیت محور تیروئیدی اثر بگذارد. با وجود این مکانیسمهای احتمالی هنوز، شناخت مکانیسم واقعی اثر گرلین درکاهش هورمونهای TSH، T_3 و T_4 نیاز به تحقیق و بررسی دارد.

همچنین در این تحقیق، برای اولین بار، اثر بر هم کنش گرلین و آنالوگ ماده P به نام [D-Arg-1, D-phe-5, D-Trp-7,9, Leu-11]Substance-P بر فعالیت محور تیروئیدی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که آنالوگ ماده P به عنوان آنتاگونیست گیرنده GHSR-Ia، اثر مهاری گرلین بر میانگین غلظت پلاسمایی هورمونهای TSH، T_3 و T_4 را بلوکه کرد.

امروزه بسیاری از آنتاگونیستهای مختلف گیرنده GHSR-Ia (مثل [D-Lys-3]-GHRP-6 و بامبزین) به طور وسیعی در درمان چاقی استفاده می شوند (۵). تحقیقات نشان داده است که گیرنده GHSR-Ia از نوع گیرنده هایی با ویژگی فعالیت ذاتی (Constitutive activity) بوده و به دو شکل فعال و غیر فعال وجود دارد. شکل فعال آن در حضور گرلین و شکل غیر فعال آن در حضور آنالوگ ماده P به نام [D-Arg-1, D-phe-5, D-Trp-7,9, Leu-11]Substance-P مشاهده می شود به طوری که آنالوگ ماده P به عنوان آنتاگونیست و یا آگونیست معکوس گیرنده GHSR-Ia عمل می‌کند (۱٤، ۱۵ و ۳۱). Asakawa و همکارانش در سال ۲۰۰۳ نشان دادند که آنالوگ ماده P با مهار گیرنده GHSR-Ia سبب کاهش اشتها، کاهش تخلیه معده و کاهش وزن بدن القاء شده توسط گرلین می شود (۵). در این تحقیق مشخص شد که آنالوگ ماده P قادر به بلوکه کردن اثر مهاری گرلین بر فعالیت محور تیروئیدی می باشد بنابراین براساس این تحقیق و بر اساس تحقیقات Akasawa و همکارانش می توان احتمال داد آنالوگ ماده P امکان دارد در کاهش وزن بدن نقش داشته باشد.

نتیجه گیری: به طور خلاصه، می توان گفت در این تحقیق، تزریق درون بطنی گرلین باعث کاهش میانگین غلظت پلاسمایی هورمون TSH و هورمونهای تیروئیدی (T_3 و T_4) شد و آنالوگ ماده P به نام [D-Arg-1, D-phe-5, D-Trp-7,9, Leu-11]Substance-P به عنوان آنتاگونیست گیرنده GHSR-Ia، اثر مهاری گرلین بر فعالیت محور تیروئیدی را به طور کامل بلوکه کرد.

تشکر و قدردانی: بررسی حاصل در دانشکده علوم زیستی و مرکز تحقیقات علوم اعصاب دانشگاه شهید بهشتی انجام شده است. ازهمکاری و راهنماییهای سرکار خانم دکتر معتمدی و جناب آقای دکتر احمدیانی و همچنین، از زحمات جناب آقای غفاری و سایر مسئولین این مرکز کمال تشکر و قدردانی می گردد.

منابع

۱ – محمودی ف، خزعلی ه، ۱۳۸٦، اثر تزریق درون بطنی گرلین و آنالوگ ماده P بر میانگین غلظت پلاسمایی هورمونهای تیروئیدی، پایان نامه دوره کارشناسی ارشد.

2- Ahren, B, 1989, GABA inhibits thyroid hormone secretion in the mouse, Thyroidology, 1,105-108.

3- Alois, S, 1999, The Tachykinin NKI receptor in the brain: Pharmacology and Putative functions, Pharmacol, 375, 51-60.

www.SID.ir

Archive of SID

4- Arisawa, M, Snyder, GD, Palatis, LDE, Hos, RH, Xu, RK, Pam, G, Mc Cann, M, 1989, Role of Substance P in suppressing growth hormone release in the rat, Pro Nat Acad Sci, 86, 7290- 7294.

5- Asakawa, A, Inui, A, Kaga, T, Katsuura, G, Fujimiya, M, Fujino, MA, Kasuga, M, 2003, Antagonism of ghrelin receptor reduces food intake and body weight in mice, Gut, 52, 947- 952.

6- Broglio, F, Gottero, C, Arvat, E, Ghigo, E, 2003, Endocrine and nonendocrine actions of ghrelin, Horm Res, 59, 109- 117.

7- Fekete, C, Legradi, G, Mihaly, E, Huang, OH, Tatrom JB, Randm WM, Emerson, CH, Lechan, RM, 2000, Alpha- melanocyte- stimulating hormone is contained in nerve terminals innervating thyrotropin- releasing hormone- synthesizing neurons in the hypothalamic paraventricular nucleus and prevents fasting- induced suppression of prothyrotropin- releasing hormone gene expression, J Neuro Sci, 20, 1550- 1558.

8- Fekete, C, Kelly, J, Mihaly, E, Sarkar, S, Rand, WM, Legradi, G, Emerson, CH, Lechan, RM, 2001, Neuropeptide Y has a central inhibitory action on the hypothalamus- Pituitary-Thyroid axis, Endocrinology, 142, 2606- 2613.

9- Fekete, C, Sarkar, S, Rand, WM, Harney, JW, Emerson, CH, Bianco, AC, Lechan, RM, 2002, Agouti- Related Protein (AgRP) has a central inhibitory action on the hypothalamus- Pituitary-Thyroid (HPT) axis; Comparisons between the effect of AgRP and Neuropeptide Y on energy homeostasis and the HPT axis, Endocrinology, 143, 3446-3853.

10- Fekete, C, Wittmann, G, Liposits, Z, Lechan, RM, 2002, GABA-ergic innervations of thyrotropin- releasing hormone- synthesizing in the hypothalamic paraventricular nucleus of the rat, Brain Res, 957, 251- 258.

11- Fekete, C, Marks, DL, Sarkar, S, Emerson, CH, Rand, WM, Cone, RD, Lechan, RM, 2004, Effect of Agouti- Related Protein in regulation of the hypothalamic- pituitary- thyroid axis in the melanocortin $_4$ receptor knockout mouse, Endocrinology, 145, 4816- 4821.

12- Gaytan, F, Barreiro, ML, Caminos, JE, Chopin, LK, Herington, AC, Morales, C, Pinlla, L, Paniague, R, Nistal, M, Casanueva, FF, Aguilar, E, Dieguez, C, Tena- Sempere, N, 2004, Expression of ghrelin and its functional receptor, the type Ia growth hormone secretagogue receptor in normal human testis and testicular tumors, J Clin Endocrinol Metab, 89, 400- 409.

13- Giordana, R, Picu, A, Broglio, F, Baldi, M, Berardelli, R, Ghigo, E, Arvat, E, 2004, Ghrelin, hypothalamus- Pituitary- Adrenal axis and cushing's syndrome, Pituitary, 7, 243- 248.

14- Holst, B, Cygankeiwicz, A, Halkjaer, JT, Ankersen, M, Schwartz, TW, 2003, High constitutive signaling of the ghrelin receptor- identification of a potent inverse agonist, Mol Endocrinol,17, 2201- 2210.

15- Holst, B, Schwartz, TW, 2004, Constitutive ghrelin receptor activity a signaling set- point in appetite regulation, Trends Pharmacol, Sci 25.

16- Hornby, PJ, 2001, Central neurocircuitry associated with emesis, Am J Med, 111, 106- 112.

17- Hosoda, H, Kojima, M, Matsuo, H, Kangawa, K, 2000, Ghrelin and des- acyl ghrelin: two major forms of rat ghrelin peptide in gastrointestinal tissue, Bio Chem Res Commun, 279, 909- 913.

18- Jaszberenyi, M, Bujdoso, E, Bagosi, Z, Telegdy, G, 2006, Mediation of the behavioral, endocrine and thermoregulatory actions of ghrelin, Horm Behave, 50, 266- 273.

19- Kamegai, J, Tamura, H, Shimizu, T, Ishii, S, Sugihara, H, Wakabayachi, I, 2001, Chronic central infusion of ghrelin increases hypothalamic neuropeptide Y and Agouti- Related protein mRNA levels and body weight in rats, Diabets, 50, 2438- 2443.

20- Kawano, H, Masuko, S, 2000, Beta- endorphin adrenocorticotrophic hormone and neuropeptide Y- containing projection fibers from the arcuate hypothalamic nucleus make synaptic contacts on to nucleus preopticus medianus neurons projecting to the paraventricular hypothalamic nucleus in the rat, Neuro Sci, 98, 555- 565.

21- Kim, MS, Small, CJ, Stanley, SA, Morgan, DGA., Seal, LJ, Kong, WM, Edwards, CMB, Abusnana, S, Sunter, D, Ghatei, MA, Bloom, SR, 2000, The central melanocortin system affects the hypothalamic- pituitary- thyroid axis and may mediate the effect of leptin, J Clin Invest, 105, 1005- 1011.

22- 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.

23- Kojima, M, Kangawa, K, 2004, Ghrelin: structure and function, Physiol Rev, 85, 495- 512.

www.SID.ir

Archive of SID

28- Von Euler, E, Gaddum, JH, 1931, An unidentified depressor substance in certain tissue extracts, J Physiol, 72, 74- 87.

29- Wren, AM, Small, CJ, Ward, HL, Murphy, KG, Dakin, CL, Taheri, S, Kennedy, AR, Roberts, GH, Morgan, DGA, 2000, Ghatei, M.A., Bloom, S.R., The NovelHypothalamic Peptide Ghrelin Stimulates Food Intake and Growth Hormone Secretion, Endocrinology, 141, 4325-4328.

30- Wren, AM, Small, CJ, Abbott, CR, Dhillo, WS, Seal, LJ, Cohen, MA, Batterham, RL, Taheri, S, Stanely, SA, Ghatei, MA, Bloom, SR, 2001, GhreIn causes hyperphagia and obesity in rats, Diabetes, 50, 2540- 2547.

31- Zizzari, P, Halem, H, Taylor, J, Dong, JZ, Datta, R, Culler, MD, Epelbaum, J, 2006. Endogenous ghrelin regulates episodic growth hormone (GH) secretion by amplifying GH pulse amplitude: Evidence from antagonism of the GH secretagogue Ia receptor, Bluet- Pajot, 11, 22- 33.

24- Legradi, G, Lechan, RM., 1999, agouri- related protein containing nerve terminals innervate thyrotropin releasing hormone neurons in the hypothalamic paraventricular nucleus, Endocrinology, 140, 3643- 365.

25- Leib, K. Ah, Ivers, K, Dancker, K, Stroh busch, B, Reinck, M, Feige, B, Berger, M, Reimann, D, Voderholzer, U, 2002, Effects of the neuropeptide Substance P on sleep, mood and neuroendocrine measures in healthy young men, Neuropsycho Pharmacol, 27,1041- 1049.

26- Mckee, KK, Palyha, OC, Feighner, SD, Hreniuk, DL, Smith, RG, Van der Ploeg, LH, Howard, AD, 1997, Molecular analysis of rat pituitary and hypothalamic growth hormone secretagogue receptors, Mol Endocrinol, 11, 415- 423.

27- Tumilasci, OR, Houssay, AB, Paz, V, Sosto, NE, Varela, V, 1989, Influence of thyroid function upon Substance P induced secretion of saliva by submaxillary glands, Horm Metab Res, 18, 234- 237.

The Interaction between Ghrelin and analog of Substance-P on thyroid axis activity in rats

Khazali H. and Mahmoudi F.

Faculty of Biology, Shahid Beheshti University, Tehran, I.R. of IRAN

Abstract

Ghrelin increases food intakes and body weight. [D-Arg-1, D-phe-5, D-Trp-7,9, Leu-11]Substance-P (an analog of Substance-P) inhibits the stimulatory effect of ghrelin on food intakes. Thyroid hormones have an important role in the regulation of body weight too. So, the goal of this study was to determine the effect of different doses of ghrelin and also, the effect of interaction between ghrelin and analog of Substance-P on thyroid axis activity. Thirty six rats in 4 groups received saline or different doses of ghrelin (1, 5 or 10nmol) and forty rats in 4 group received simultaneous injection of ghrelin (5nmol) and different doses of analog Subsatnce-P (5, 10 or 20nmol) or saline. Blood samples were collected and were analyzed by RIA. ICV infusion of 5 or 10 nmol of ghrelin significantly decreased thyroid hormones concentration compared to saline and 20nmol of analog of substance P blocked the inhibitory effect of ghrelin on thyroid axis activity.

Keywords: Ghrelin; Substance-P; thyroid hormones

www.SID.ir