

## تأثیر استرس القا شده توسط تزریق درون رگی اپی نفرین و کورتیزول بر میزان ترشح ارکسین در موش‌های صحرایی نر تغذیه شده با سطوح مختلف انرژی

همایون خزعلی، معصومه معتمدی جویباری

گروه فیزیولوژی جانوری، دانشکده‌ی علوم زیستی، دانشگاه شهید بهشتی، نشانی مکاتبه‌ی نویسندگی مسئول: تهران، ولنجک، دانشگاه

شهید بهشتی، دانشکده‌ی علوم زیستی، آزمایشگاه فیزیولوژی جانوری، معصومه معتمدی جویباری؛

e-mail: motamedi.1363@gmail.com

### چکیده

**مقدمه:** ارکسین یک ماده ارکسیژنیک در جوندگان و انسان‌ها است و پژوهش‌ها نشان داده در پاسخ سازشی به کاهش وزن نقش داشته، و با گرسنگی افزایش می‌یابد. از سوی دیگر، کاهش وزن و گرسنگی با افزایش سطح اپی نفرین و کورتیزول همراه است. بنابراین، هدف پژوهش حاضر بررسی اثر اپی نفرین و کورتیزول بر ترشح ارکسین القا شده توسط گرسنگی در موش‌های صحرایی تغذیه شده با سطوح مختلف انرژی بود. **مواد و روش‌ها:** ۴۵ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار (۳۵۰-۳۰۰ گرم، ۱۵ سر موش در هر گروه) با سطح انرژی ۱۰۰٪، ۵۰٪ و ۲۵٪ به مدت ۱۰ روز تغذیه شدند. سپس موش‌ها به مدت ۴۸ ساعت مورد گرسنگی مطلق قرار گرفتند. حیوانات برای انجام عمل کانولاسیون در سرخرگ کاروتید به منظور تزریق و جمع‌آوری نمونه‌های خونی، بیهوش شدند. موش‌ها در هر گروه به ترتیب (۳ کیلوگرم اپی نفرین به ازای کیلوگرم وزن بدن) یا (۳ میکروگرم کورتیزول به ازای کیلوگرم وزن بدن) و مخلوط اپی نفرین و کورتیزول دریافت کردند (۰/۱ میلی‌گرم در ۱ میلی‌لیتر اسمیر خون محیطی). نمونه‌های خون در زمان‌های قبل، ۳۰، ۶۰ و ۱۲۰ دقیقه بعد از تزریق جمع‌آوری، و میزان ارکسین و گلوکز پلاسما اندازه‌گیری گردید. یافته‌ها: در رژیم ۱۰۰٪ و ۵۰٪ سطح ارکسین به ترتیب بعد از تزریق مخلوط اپی نفرین و کورتیزول، و اپی نفرین (به تنهایی) کاهش پیدا کرد (۰/۰۵/۰۵). در مقابل، گروهی که با رژیم ۲۵٪ تغذیه کردند پاسخ معنی‌داری به تزریق هیچ‌یک از موارد کورتیزول، اپی نفرین و مخلوط هردو نشان ندادند (۰/۰۵/۰۵). نتیجه‌گیری: یافته‌ها نشان داد تزریق اپی نفرین ترشح ارکسین القا شده توسط گرسنگی را در موش‌هایی که با رژیم ۱۰۰٪ و ۵۰٪ تغذیه شدند، مهار می‌نماید. هم‌چنین، پاسخ ترشحی ارکسین به اپی نفرین تحت تأثیر کاهش وزن می‌باشد.

**واژگان کلیدی:** ارکسین، کورتیزول (Cor)، اپی نفرین (Ep)

دریافت مقاله: ۹۰/۹/۲۷ - دریافت اصلاحیه: ۹۰/۱۱/۵ - پذیرش مقاله: ۹۰/۱۱/۱۱

### مقدمه

پروارکسین هیپوتالاموسی بعد از ۴۸ ساعت گرسنگی همراه با افت قند خون القا شده توسط انسولین افزایش می‌یابد.<sup>۱</sup> این یافته پیشنهاد می‌نماید فعالیت این نورون‌ها در حالت گرسنگی افزایش می‌یابد. ساکورابی و همکاران دریافتند تزریق داخل بطنی (ICV) ارکسین A و B در موش‌های صحرایی، میزان غذا خوردن را به طور وابسته به دوز

ارکسین یک پپتید ارکسیژنیک بوده و به صورت A و B در خون وجود دارد.<sup>۱</sup> نورون‌های ارکسین به چندین پیام سوخت و سازی که نشان‌دهنده‌ی وضعیت انرژی بدن هستند، پاسخ می‌دهند. به طوری‌که بیان mRNA پری-

## مواد و روش‌ها

در پژوهش حاضر از ۴۵ سر موش صحرایی نر بالغ، نژاد ویستار با وزن ۲۰۰ تا ۳۵۰ گرم استفاده گردید. حیوانات در دمای ۲۰ درجه‌ی سانتی‌گراد در شرایط ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی در اتاق حیوانات دانشکده‌ی علوم زیستی دانشگاه شهید بهشتی نگهداری شدند. در این پژوهش، از محلول تزریقی اپی‌نفرین (شرکت دارویی گلدلیف)، کورتیزول (شرکت استرالوئید) و کیت ویژه‌ی سنجش هورمون ارکسین (شرکت میلی پور) استفاده گردیده است. همچنین، میزان گلوکز خون توسط دستگاه گلوکومتر سنجیده شد.

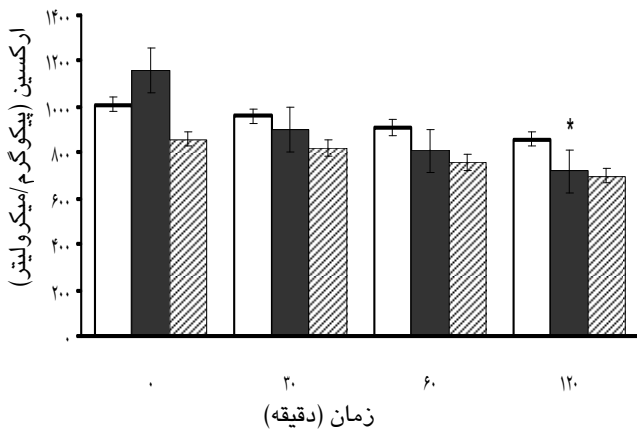
۴۵ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار به طور تصادفی به سه گروه تقسیم شدند. حیوانات در گروه ۱ با ۲۵٪، در گروه ۲ با ۵۰٪ و در گروه ۳ با ۱۰۰٪ انرژی به مدت ۱۰ روز تغذیه شدند. نحوه‌ی تعیین رژیم مورد نظر براساس میانگین مصرف حیوان به طور طبیعی در روز ضربدر درصد رژیم غذایی بوده است.<sup>۸</sup> آب به صورت آزادانه در اختیار حیوانات قرار داشت. بعد از ۱۰ روز غذا از جلوی حیوانات به مدت ۴۸ ساعت برداشته شد. پس از ۴۸ ساعت گرسنگی مطلق، (ساعت ۸ صبح) حیوانات توسط تزریق درون صفاقی مخلوط کتامین و زایلین بیهوش و تحت جراحی کانولاسیون قرار گرفتند و یک عدد کانول پلاستیکی در سرخرگ کاروتید چپ حیوان به منظور تزریق و خون‌گیری قرار داده شد. موش‌های هر گروه به سه دسته تقسیم شدند و به هر دسته به ترتیب (۳ میکروگرم اپی‌نفرین به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) یا (۳ میکروگرم کورتیزول به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) و مخلوط این دو درون رگ کاروتید تزریق شد (۰/۱ میلی‌گرم در ۱ میلی‌لیتر اسمیر خون محیطی).<sup>۸،۹</sup> نمونه‌های خون قبل از تزریق، و در زمان‌های ۳۰، ۶۰ و ۱۲۰ دقیقه بعد از تزریق از رگ کاروتید جمع‌آوری و به سرعت به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۳۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید و پلاسما‌ی نمونه‌های خون جدا شده در دمای ۲۰- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شدند. از هپارین به عنوان ماده‌ی ضد انعقاد خون استفاده گردید.

غلظت پلاسمایی ارکسین با استفاده از روش رادیوایمنواسی RIA (کیت رادیوایمنواسی ارکسین از شرکت میلیپور آمریکا بوده که شرکت وارد کننده آن شرکت تابش‌نور، همدان است) و با استفاده از آنتی‌ژن ارکسین

افزایش می‌دهد.<sup>۱</sup> پس از آن پژوهش‌های بسیاری اثر افزایش ارکسین A بر غذا خوردن را در بسیاری از گونه‌ها نشان دادند. مورایا و همکاران توسط روش‌های ایمونوهیستوشیمیایی دریافتند ارکسین به طور مستقیم نوروپپتید Y (NPY)، پرواپیوملانوکورتین (POMC) و نورون‌های حساس به گلوکز را در هسته‌ی قوسی (Arceus) و هسته‌ی شکمی-میانی هیپوتالاموس تنظیم کرده و تمام این یافته‌ها نشان‌گر عملکرد ارکسین/ارکسین می‌باشد. همچنین، در سال ۲۰۰۵، ماتسومورا و همکاران نشان دادند غلظت ارکسین A به شدت با نمایه‌ی توده‌ی بدن<sup>۱</sup> در افراد طبیعی رابطه دارد. همچنین، میزان ارکسین A پلاسما به شدت در بیماران چاق پایین است.<sup>۲</sup> از سوی دیگر، پژوهش‌ها نشان داده‌اند گرسنگی با افزایش سطح اپی‌نفرین و کورتیزول همراه است.<sup>۳</sup> با وجودی که تاکنون پژوهشی مبنی بر اثر اپی‌نفرین و کورتیزول بر میزان ارکسین پلاسما انجام نگرفته، اما از آنجایی‌که نشان داده شده تزریق اپی‌نفرین، میزان گرلین پلاسما را در زمان گرسنگی کاهش می‌دهد،<sup>۵</sup> این احتمال وجود دارد که ارکسین نیز به عنوان یکی دیگر از هورمون‌های موثر در تغذیه تحت تاثیر تغییرات متابولیک و هورمونی ناشی از گرسنگی مانند هورمون‌های استرسی قرار بگیرد. از سوی دیگر، پژوهش‌های بسیاری در رابطه با اثرات ارکسین بر اپی‌نفرین و کورتیزول وجود دارد، به طوری‌که نشان داده شده تزریق ارکسین A ترشح کورتیزول را از سلول‌های قشر فوق کلیوی افزایش می‌دهد.<sup>۶</sup> همچنین مشاهده گردیده تزریق ICV، ۱۰۰ پیکومول ارکسین به شدت ۶۰ و ۹۰ دقیقه بعد از تزریق غلظت اپی‌نفرین را در خرگوش افزایش داده است.<sup>۷</sup> اگر ارکسین بر محور HPA اثر می‌گذارد، پس می‌توان این احتمال را مطرح نمود که ممکن است ترشح خود ارکسین نیز تحت تاثیر هورمون‌های محور HPA قرار گیرد. بنابراین، هدف پژوهش حاضر، بررسی اثر تزریق هورمون‌های استرسی (کورتیزول و اپی‌نفرین) بر ارکسین به عنوان یک فاکتور قوی اشتها در موش‌های گرسنه - که با رژیم‌های متفاوت غذایی از لحاظ سطح انرژی تغذیه شده‌اند - بود.

تحت رژیم ۲۵٪ و ۱۰۰٪ قرار داشتند هیچ پاسخ معنی‌داری را به تزریق، استرس، نشان دادند.

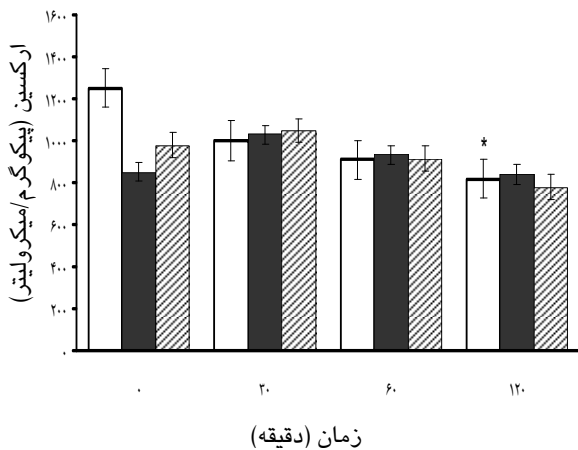
■ ۱۰۰٪ ■ ۵۰٪ ▨ ۲۵٪



نمودار ۲- اثر تزریق درون رگی اپی‌نفرین (۳ میکروگرم به ازای کیلوگرم وزن بدن) بر میانگین غلظت پلاسمایی ارکسین قبل (زمان ۰) و ۳۰، ۶۰ و ۱۲۰ دقیقه بعد از تزریق در حیواناتی که به مدت ۱۰ روز تحت رژیم‌های ۵۰، ۱۰۰ و ۲۵٪ انرژی بودند. مقادیر به صورت میانگین±انحراف معیار بیان شده‌اند. \* ( $P \leq 0.05$ ) اختلاف معنی‌دار با کنترل (زمان قبل از تزریق) مربوطه می‌باشد.

در نمودار ۳ اثر تزریق مخلوط اپی‌نفرین و کورتیزول روی میانگین سطح ارکسین پلازما در سه گروه با رژیم‌های ۲۵٪ و ۵۰٪ و ۱۰۰٪ نشان داده شده است. اثر کاهشی مخلوط اپی‌نفرین و کورتیزول روی ارکسین در رژیم ۱۰۰٪ معنی‌دار بود ( $P < 0.05$ ).

■ ۱۰۰٪ ■ ۵۰٪ ▨ ۲۵٪



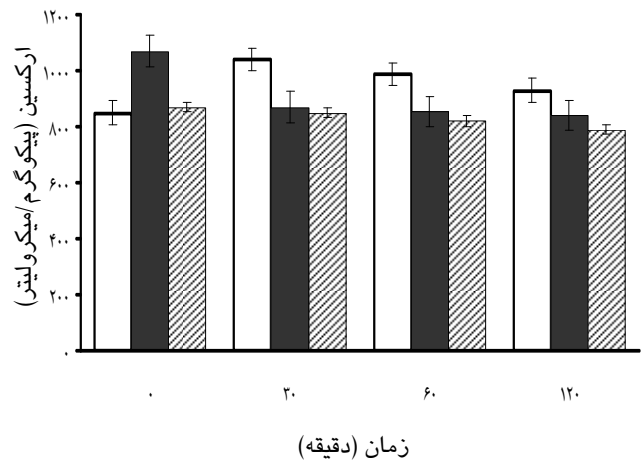
نمودار ۳- اثر تزریق درون رگی مخلوط اپی‌نفرین و کورتیزول (۳ میکروگرم به ازای کیلوگرم وزن بدن) بر میانگین غلظت پلاسمایی ارکسین قبل (زمان ۰) و ۳۰، ۶۰ و ۱۲۰ دقیقه بعد از تزریق در حیواناتی که به مدت ۱۰ روز تحت رژیم‌های ۵۰، ۱۰۰ و ۲۵٪ انرژی بودند. مقادیر به صورت میانگین±انحراف معیار بیان شده‌اند. \* ( $P \leq 0.05$ )

موشی (سه تکرار برای هر نمونه) اندازه‌گیری شد. اینتراسی و اینتراسی ارکسین به ترتیب ۴٪ و ۳٪ بود. میزان گلوکز نمونه‌های خونی توسط دستگاه گلوکومتر اندازه‌گیری شد. تمام داده‌ها برای مقایسه‌ی میانگین غلظت هورمون ارکسین و گلوکز، قبل و بعد از تزریق با کمک نرم‌افزار SPSS و استفاده از آزمون آماری آنوای یک طرفه و دوطرفه مکرر مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. برای مشاهده‌ی معنی‌دار بودن تغییرات از پس‌آزمون بنفرونی استفاده شد. داده‌ها به صورت میانگین±انحراف معیار بیان شده‌اند و مقادیر معنی‌دار تلقی گردید. ( $P \leq 0.05$ )

**یافته‌ها**

در گروهی که تحت رژیم ۵۰٪ انرژی قرار داشتند غلظت ارکسین قبل از تزریق (ارکسین گرسنگی) به طور قابل توجهی بیشتر از سطح پایه‌ی ارکسین در گروهی بود که تغذیه‌ی ۱۰۰٪ داشتند ( $P \leq 0.05$ ). همان‌طور که در نمودار ۱ مشاهده می‌گردد، میانگین سطح ارکسین پلازما بعد از تزریق کورتیزول در هیچ‌یک از گروه‌ها تاثیر معنی‌داری نداشت.

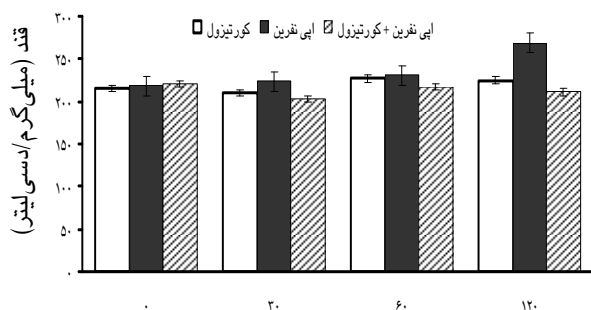
■ ۱۰۰٪ ■ ۵۰٪ ▨ ۲۵٪



نمودار ۱- اثر تزریق درون رگی کورتیزول (۳ میکروگرم به ازای کیلوگرم وزن بدن) بر میانگین غلظت پلاسمایی ارکسین قبل (زمان ۰) و ۳۰، ۶۰ و ۱۲۰ دقیقه بعد از تزریق در حیواناتی که به مدت ۱۰ روز تحت رژیم‌های ۵۰، ۱۰۰ و ۲۵٪ انرژی بودند. مقادیر به صورت میانگین±انحراف معیار بیان شده‌اند. \* ( $P \leq 0.05$ ) اختلاف معنی‌دار با کنترل (زمان قبل از تزریق) مربوطه می‌باشد.

با توجه به نمودار ۲ میانگین سطح ارکسین پلازما در گروهی که تحت رژیم ۵۰٪ قرار داشتند بعد از تزریق اپی‌نفرین کاهش نشان داد ( $P \leq 0.05$ ). در مقابل، گروهی که

حیواناتی که به مدت ۱۰ روز تحت رژیم ۵۰٪ انرژی بودند. مقادیر به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار بیان شده‌اند.  $(P \leq 0.05)^*$  اختلاف معنی‌دار با کنترل (زمان قبل از تزریق) مربوطه می‌باشد.



نمودار ۶- اثر تزریق درون رگی کورتیزول، اپی‌نفرین و مخلوط اپی‌نفرین و کورتیزول (۳ میکروگرم به ازای کیلوگرم وزن بدن) بر میانگین غلظت پلاسمایی گلوکز خون قبل (زمان ۰) و ۳۰، ۶۰ و ۱۲۰ دقیقه بعد از تزریق در حیواناتی که به مدت ۱۰ روز تحت رژیم ۲۵٪ انرژی بودند. مقادیر به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار بیان شده‌اند.  $(P \leq 0.05)^*$  اختلاف معنی‌دار با کنترل (زمان قبل از تزریق) مربوطه می‌باشد.

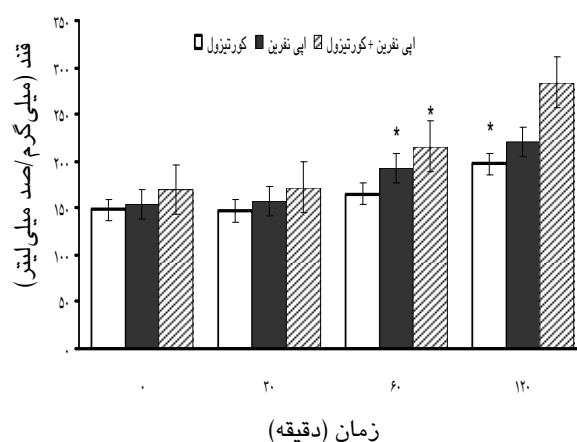
## بحث

پژوهش حاضر، بررسی‌های گذشته را مبنی بر اثر افزایشی کاهش وزن بر ارکسین پلازما را تایید نموده است. بررسی‌های گذشته نشان داده بیان mRNA پری‌پروارکسین هیپوتالاموسی بعد از ۴۸ ساعت گرسنگی همراه با افت قند خون القا شده توسط انسولین افزایش می‌یافت.<sup>۲</sup> این یافته پیشنهاد می‌نماید فعالیت این نورون‌ها تحت شرایط گرسنگی افزایش می‌یابد. همچنین، ثابت شده تزریق ICV ارکسین، غذا خوردن را به طور وابسته به دوز تحریک می‌نماید. در سال ۲۰۰۵، ماتسومورا و همکاران نشان دادند غلظت ارکسین A به شدت با BMI در افراد طبیعی رابطه دارد. به طوری‌که با کاهش وزن میزان آن در پلازما افزایش می‌یابد، در حالی‌که میزان ارکسین A پلازما به شدت در بیماران چاق پایین است.<sup>۳</sup> در پژوهش حاضر سطح ارکسین به دست آمده از گرسنگی در رژیم ۵۰٪ (که کاهش وزن شدیدتری نسبت به گروه ۱۰۰٪ داشتند)، بیشتر از ۱۰۰٪ است. اما دلیل این‌که سطح ارکسین در رژیم ۵۰٪ بیشتر از ۲۵٪ است، شاید به سبب برهم ریختن تعادل هورمونی تحت رژیم بسیار سخت باشد.

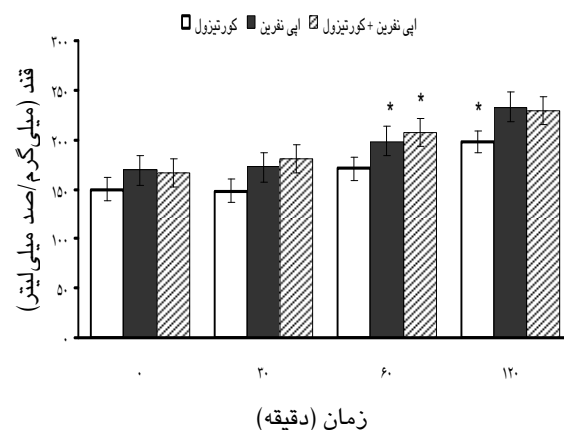
یافته‌های به دست آمده از این پژوهش برای اولین بار نشان داد تزریق اپی‌نفرین و مخلوط اپی‌نفرین و کورتیزول

اختلاف معنی‌دار با کنترل (زمان قبل از تزریق) مربوطه می‌باشد.

نمودار ۴ و ۵ به ترتیب اثر تزریق هورمون‌های استرسی روی گلوکز، در رژیم‌های ۱۰۰٪ و ۵۰٪ انرژی را نشان می‌دهد. در تمام موارد اختلاف معنی‌داری بین قبل از تزریق و ۶۰ دقیقه بعد از تزریق مشاهده می‌شود  $(P \leq 0.05)$ . اما اثر اپی‌نفرین روی گلوکز خون به مراتب بیشتر از اثر کورتیزول است. همچنین، اثر افزایشی اپی‌نفرین و کورتیزول قابل مشاهده می‌باشد  $(P \leq 0.05)$ . همان‌طور که در نمودار ۶ آورده شده هورمون‌های استرسی در رژیم ۲۵٪ روی گلوکز اثر معنی‌داری نداشتند.



نمودار ۴- اثر تزریق درون رگی کورتیزول، اپی‌نفرین و مخلوط اپی‌نفرین و کورتیزول (۳ میکروگرم به ازای کیلوگرم وزن بدن) بر میانگین غلظت پلاسمایی گلوکز خون قبل (زمان ۰) و ۳۰، ۶۰ و ۱۲۰ دقیقه بعد از تزریق در حیواناتی که به مدت ۱۰ روز تحت رژیم ۱۰۰٪ انرژی بودند. مقادیر به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار بیان شده‌اند.  $(P \leq 0.05)^*$  اختلاف معنی‌دار با کنترل (زمان قبل از تزریق) مربوطه می‌باشد.



نمودار ۵- اثر تزریق درون رگی کورتیزول، اپی‌نفرین و مخلوط اپی‌نفرین و کورتیزول (۳ میکروگرم به ازای کیلوگرم وزن بدن) بر میانگین غلظت پلاسمایی گلوکز خون قبل (زمان ۰) و ۳۰، ۶۰ و ۱۲۰ دقیقه بعد از تزریق در

بک و راچی در سال ۱۹۹۹ نشان دادند تزریق لپتین سطح ارکسین A را در ناحیه‌ی جانبی هیپوتالاموس (LHA) کاهش می‌دهد.<sup>۱۵</sup> علاوه بر این، لوپز و همکاران نشان دادند لپتین می‌تواند افزایش بیان ژن ارکسین القا شده توسط گرسنگی را مهار نماید.<sup>۱۶</sup> با توجه به بررسی‌های انجام شده در زمینه‌ی ارتباط لپتین با ارکسین و اثر تحریکی اپی‌نفرین بر عبور لپتین از سد خونی - مغزی می‌توان پیشنهاد نمود لپتین با اتصال به گیرنده‌های خود در سلول‌های حاوی ارکسین موجب کاهش ترشح ارکسین در ناحیه‌ی جانبی هیپوتالاموس و هسته‌ی قوسی می‌گردد.<sup>۱۷</sup>

تاکنون پژوهشی در زمینه‌ی اثر هورمون‌های استرسی بر هورمون ارکسین در رژیم‌های غذایی مختلف انجام نشده است. بنابراین نمی‌توان با اطمینان در رابطه با سازوکار تاثیر اپی‌نفرین و کورتیزول بر میزان ارکسین پلازما اظهار نمود. این مورد که چرا تزریق کورتیزول در این پژوهش به تنهایی روی سطح ارکسین پلازما اثر نگذاشت، ممکن است به دلیل وضعیت سوخت و ساز موش‌ها باشد. البته این یافته در آزمایش مشابهی که روی هورمون گرلین صورت گرفته نیز مشاهده شده است. به هر حال پاسخگویی به این پرسش به بررسی‌های بیشتری نیاز دارد. یافته‌ی جالب توجه از این پژوهش عدم اثر اپی‌نفرین و مخلوط اپی‌نفرین و کورتیزول بر ارکسین در رژیم ۲۵٪ است که دلیل آن مشخص نمی‌باشد، اما شاید بتوان پیشنهاد داد برای اثر کاهشی اپی‌نفرین روی ارکسین، به احتمال زیاد عوامل دیگری نیز دخیل هستند که این عوامل وابسته به وضعیت سوخت و ساز می‌باشند.

بنابراین، این آزمایش برای اولین بار نشان داده اپی‌نفرین به عنوان یک هورمون استرسی، که میزان آن در زمان استرس ناشی از گرسنگی هم افزایش می‌یابد، می‌تواند سطح ارکسین پلازما را در موش‌های نر کاهش دهد. اما به احتمال زیاد این اثر کاهشی وابسته به وضعیت متابولیک است و در دریافت انرژی بسیار پایین (۲۵٪) اثر خود را از دست داده یا بسیار ضعیف می‌شود. به عبارت دیگر، اپی‌نفرین به صورت مستقیم و مستقل بر ارکسین اثر نگذاشته، و اثر آن به عوامل متابولیکی و شاید هورمونی دیگری وابسته است.

سپاسگزاری: به این‌وسيله نویسندگان این مقاله از همکاری دانشگاه شهید بهشتی که ما را در تامین هزینه‌های انجام این پژوهش یاری نمودند کمال تشکر و قدردانی را اعلام می‌دارد.

سبب کاهش معنی‌دار ارکسین به ترتیب در موش‌هایی که با سطح ۵۰٪ و ۱۰۰٪ تغذیه شده بودند گردید، اما تزریق کورتیزول هیچ اثری روی میانگین غلظت ارکسین پلازما نگذاشت. به هر حال، تزریق اپی‌نفرین و مخلوط اپی‌نفرین و کورتیزول سطح گلوکز خون را افزایش داد، اما این افزایش در تزریق کورتیزول چشم‌گیر نبود. پیش‌ساز ارکسین (پری پروارکسین) در نواحی جانبی هیپوتالاموس (LHA) بیان می‌گردد.<sup>۱۰</sup> LHA شامل نورون‌های حساس به گلوکوزی می‌باشد که کاهش گلوکز خون موجب افزایش فعالیت این ناحیه شامل افزایش ترشح ارکسین می‌گردد.<sup>۱۱</sup> افزایش گلوکز خون و همچنین پیام‌های دیگری مانند وجود غذا در لوله‌ی گوارش فعالیت این ناحیه را کم می‌نماید.<sup>۱۲</sup> همچنین، بررسی‌های دیگری نشان دادند ارکسین ترشح شده از سلول‌های پانکراسی تحت کنترل مستقیم گلوکز خون عمل می‌کنند و در زمان افزایش غلظت گلوکز کاهش یافته و در زمان کاهش غلظت گلوکز ترشح آن افزایش می‌یابد.<sup>۱۳</sup> بنابراین، شاید بتوان این کاهش سطح ارکسین را با افزایش سطح گلوکز خون توجیه کرد. همان‌طور که یافته‌های نشان داده اپی‌نفرین و مخلوط اپی‌نفرین و کورتیزول میزان گلوکز خون را در رژیم ۵۰٪ و ۱۰۰٪ به طور چشمگیری، ۶۰ دقیقه بعد از تزریق افزایش داد. در نتیجه‌ی این افزایش، گلوکز خون به عنوان پیامی سلول‌های حساس به گلوکز در ناحیه‌ی جانبی هیپوتالاموس را تحریک کرده و موجب کاهش فعالیت نورون‌های نواحی LHA از جمله نورون‌های حاوی پیش‌ساز ارکسین شدند. از آنجا که افزایش گلوکز خون القاشده توسط اپی‌نفرین در رژیم ۲۵٪ دیده نمی‌شود، به احتمال زیاد می‌تواند توجیه کننده‌ی عدم تاثیر اپی‌نفرین روی میزان ارکسین پلازما در رژیم ۲۵٪ باشد.

از سوی دیگر پژوهش‌ها نشان دادند اپی‌نفرین می‌تواند عبور لپتین از سد خونی - مغزی را افزایش دهد.<sup>۴</sup> بنابراین می‌توان لپتین را به عنوان یکی از فاکتورهای پیشنهادی برای ایجاد اثر کاهشی اپی‌نفرین بر ارکسین دانست. لپتین یک محصول پروتئینی ناشی از ژن چاقی می‌باشد که توسط سلول‌های چربی ایجاد می‌گردد. تزریق خارجی لپتین وزن را کم و تحریک تغذیه توسط پپتیدهای ارکسینیک مختلف را مهار می‌نماید.<sup>۴-۸</sup> همچنین، هسته‌ی قوسی یک ناحیه‌ی عمده از نورون‌های پاسخگو به لپتین است.<sup>۱۳</sup> از سوی دیگر نورون‌های ارکسین به لپتین حساس هستند،<sup>۱۴</sup> به طوری‌که

## References

1. Sakurai T, Amemiva A, Ishii M, Matsuzaki I, Chemelli RM, Tanaka H, et al. Orexins and orexin receptors: a family of hypothalamic neuropeptides and G protein-coupled receptors that regulate feeding behavior. *Cell* 1998; 92: 1 page following 696.
2. Kircheggessner AL. Orexins in the brain-gut axis. *Endocr Rev* 2002; 23: 1-15.
3. Martynska L, Wokinska-Witort E, Chmielowska M, Bik W, Baranowska B. The Physiological role of orexins. *Neuro Endocrinol Lett* 2005; 26: 289-92.
4. Banks WA, Burney BO, Robinson SM. Effects of triglycerides, obesity, and starvation on ghrelin transport across the blood-brain barrier. *Peptides* 2008; 29: 2061-5.
5. Motamedi M, Khazali H. Effect of epinephrine and cortisol on fasting-induced ghrelin secretion in male rats fed different levels of their energy requirement. *Physio and Pharmacol* 2010; 14: 165-173.
6. Mazzocchi G, Malendowicz L.K, Gottardo L, Aragona F, Nussdorfer GG. Orexin A stimulates cortisol secretion from human adrenocortical cells through activation of the adenylate cyclase dependent signaling cascade. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 778-82.
7. Matsumura K, Tsuchihashi T, Abe I. Central orexin-A augments sympathoadrenal outflow in conscious rabbits. *Hypertension* 2001; 37: 1382-7.
8. Chacon F, Esquifino AI, Perello M, Cardinali DP, Spinedi E, Alvarez MP. 24-hour changes in ACTH, corticosterone, growth hormone, and leptin levels in young male rats subjected to calorie restriction. *Chronobiol Int* 2005; 22: 253-65.
9. Wortsman J, Frank S, Cryer PE. Adrenomedullary response to maximal stress humans. *Am J Med* 1984; 77: 779-84.
10. Bernardis LL, Bellinger LL. The lateral hypothalamic area revisited: ingestive behavior. *Neurosci Biobehav Rev* 1996; 20: 189-287.
11. Oomura Y, Onyama H, Sugimori M, Nakemura T, Yamada Y. Glucose inhibition of the glucose-sensitive neurons in the rat lateral hypothalamus. *Nature* 1974; 247: 284-6.
12. Ouedraogo R, Naslund E, Kircheggessner AL. Glucose regulates the release of orexin-a from the endocrine pancreas. *Diabetes* 2003; 52: 111-7.
13. Kalra SP, Dube MG, Pu S, Xu B, Horvath TL, Kalra PS. Ineracting appetite-regulating pathways in the hypothalamic regulation of body weight. *Endocr Rev* 1999; 20: 68-100.
14. Zhang Y, Proenca R, Maflei M, Barone M, Leopold L, Fliedman JM. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 2002; 372: 425-32.
15. Beck B, Richy S. Hypothalamic hypocretin/orexin and neuropeptide Y: divergent interaction with energy depletion and leptin. *Biochem Biophys Res Commun* 1999; 258: 119-22.
16. Lopez M, Seoane L, Garcia MC, Lago F, Casanueva FF, Senaris R, et al. Leptin regulation of prepro-orexin and orexin receptor mRNA levels in the hypothalamus. *Biochem Biophys Res Commun* 2000; 269: 41-5.
17. Horvath TL, Diano S, Van den pol AN. Synaptic interaction between hypocretin (orexin) and neuropeptide Y cells in the rodent and primate hypothalamus: a novel circuit implicated in metabolic and endocrine regulations. *J Neurosci* 1999; 19: 1072-87.

Original Article

## Effect of Stress Induced by Epinephrine and Cortisol Injection on Orexin Secretion in Male Rats Fed with Different Levels of Their Energy Requirement

Khazali H, Motamedi Joibari M

Department of Animal Physiology, Faculty of Bioscience, Shahid Beheshti University, Tehran, I.R. Iran

e-mail: Motamedi.1363@gmail.com

Received: 18/12/2011 Accepted: 31/01/2012

### Abstract

**Introduction:** Orexin is a potent orexigenic agent in rodents and humans. Some research shows that orexin participates in the adaptive response to weight loss and its levels rise with dieting. On the other hand, weight loss and fasting is accompanied by increased levels of epinephrine and cortisol. In this study we investigated the effects of epinephrine (EN) and cortisol on fasting-induced orexin secretion in rats fed different levels of their energy requirements. **Materials and Methods:** Forty-five male wistar rats (300-350 g, 15 per group) were fed a diet containing 100%, 50% and 25% of their energy requirement for 10 days, rats were anesthetized following 48 hour prolonged fasting and then cannulated in the carotid artery for drug injection and blood sampling. Animals were divided into 3 treatment groups that received either (3 µg/Kg BW) EN, cortisol or a combination of those two (0.1 mg in 1 ml of PBS). Orexin and glucose levels were analyzed before (time 0), and 30, 60 and 120 min after injection. **Results:** In the 50% and 100% food restricted groups, fasting orexin levels fell after EN and the combination of EN and cortisol injection respectively ( $p \leq 0.05$ ). In contrast, the group that had 25% food restriction showed no response to cortisol, EN or the combination of both ( $p > 0.05$ ). **Conclusion:** These results indicate that injection of EN suppresses starvation-induced secretion of orexin in normal (100%) and starved (50%) rats, and that orexin secretion response to EN might be affected by weight loss.

Keywords: Orexin, Cortisol, Epinephrin