

اثر گرلین بر سطح گلوکز پلاسما، وزن بدن، مصرف غذا و هماتوکریت در هیپوکسی سیستمیک حاد و مزمن در موش‌های صحرائی نر بالغ

دکتر شیرین ببری^۱، دکتر گیسو محدث^۱، دکتر محمدرضا علیپور^۲، هادی ابراهیمی^۱، فضا حسین‌زاده^۱

۱) مرکز تحقیقات علوم اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، ۲) مرکز تحقیقات سل و ریه، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، نشانی مکاتبه‌ی نویسنده‌ی مسئول: تبریز، خیابان گلگشت، دانشگاه علوم پزشکی، دانشکده‌ی پزشکی، گروه فیزیولوژی، دانشجوی PHD فیزیولوژی، فضا حسین‌زاده؛ e-mail: Hossenzadeh_fez@yahoo.com

چکیده

مقدمه: هیپوکسی حاد و مزمن میزان قند خون را تحت تاثیر قرار می‌دهد و سبب کاهش وزن بدن می‌شود. گرلین سبب افزایش اشتها، افزایش وزن، تنظیم سوخت و ساز و نیز هومئوستاز گلوکز می‌شود. بنابراین، در پژوهش حاضر اثر تجویز حاد و مزمن گرلین بر سطح گلوکز خون، وزن بدن، مصرف غذا و هماتوکریت در مدل هیپوکسی سیستمیک حاد و مزمن در موش‌های نر بالغ بررسی گردید. **مواد و روش‌ها:** ۴۸ سر موش صحرائی نر بالغ نژاد ویستار به ۶ گروه (کنترل حاد + سالین، کنترل مزمن + سالین، هیپوکسی حاد یا مزمن + سالین، هیپوکسی حاد یا مزمن + گرلین ۸۰ میکروگرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) تقسیم شدند. گروه کنترل در هوای اتاق (اکسیژن ۲۱٪) ماندند. هیپوکسی توسط اتاقک هیپوکسی نرموباریک با اکسیژن ۱۱٪ به مدت دو روز (حاد) و ده روز (مزمن) القا شد. سپس سطح گلوکز خون، وزن بدن، مصرف غذا و هماتوکریت اندازه‌گیری شدند. **یافته‌ها:** هیپوکسی مزمن موجب کاهش سطح گلوکز خون ($P < 0/001$) شد. تزریق گرلین سطح گلوکز خون را در هیپوکسی حاد ($P < 0/005$) و مزمن ($P < 0/001$) افزایش داد. وزن بدن در هر دو گروه هیپوکسی حاد و مزمن ($P < 0/001$) کاهش یافت و تجویز گرلین از کاهش وزن در گروه هیپوکسی مزمن ($P < 0/001$) جلوگیری نمود. هیپوکسی حاد و مزمن ($P < 0/001$) به طور معنی‌داری مصرف غذا را کاهش داد، تجویز گرلین مصرف غذا را در گروه هیپوکسی حاد ($P < 0/001$) و مزمن ($P < 0/005$) افزایش داد. همچنین، هیپوکسی حاد ($P < 0/001$) و مزمن ($P < 0/001$) میزان هماتوکریت را افزایش دادند. **نتیجه‌گیری:** تجویز گرلین در تعدیل سطح گلوکز خون، وزن بدن و مصرف غذا در شرایط هیپوکسی مفید می‌باشد.

واژگان کلیدی: گرلین، هیپوکسی، گلوکز، هماتوکریت، وزن بدن

دریافت مقاله: ۹۱/۶/۴ - دریافت اصلاحیه: ۹۱/۷/۱۱ - پذیرش مقاله: ۹۱/۷/۱۲

مقدمه

هیپوکسی به معنی کاهش اکسیژن قابل دسترس در خون و در بافت‌های بدن است که در اثر کاهش فشار سهمی اکسیژن جو (صعود به ارتفاعات)، بیماری‌های مختلف تنفسی مانند آسم، آپنه‌ی انسدادی خواب، بیماری انسدادی مزمن

ریه، بیماری‌های سیانوتیک قلبی یا کاهش انتقال اکسیژن توسط خون به بافت‌ها (کم‌خونی) یا ناتوانی بافت‌ها در استفاده از اکسیژن ایجاد می‌شود.^{۱-۴}

پژوهش‌ها نشان داده‌اند هیپوکسی حاد و مزمن، قند خون و هورمون‌های درگیر در کنترل آن را تحت تاثیر قرار می‌دهد. همچنین، هیپوکسی سبب کاهش وزن از راه کاهش

مصرف انرژی، افزایش سوخت و ساز و از دست دادن اشتها شده و سبب افزایش هماتوکریت می‌گردد.^{۵-۷}

گرلین پپتیدی ۲۸ اسیدآمینه‌ای است که به طور عمده توسط فوندوس معده ترشح می‌شود.^۸ همچنین، به مقادیر کمتری در مغز، هیپوتالاموس، هیپوفیز، قشر آدرنال، سلول‌های جزایر لانگرهانس پانکراس و بافت‌های متعدد دیگر نیز مشاهده شده است.^۹ گرلین یک لیگاند درون‌زای محرک برای گیرنده‌ی هورمون رشد بوده که دارای اعمال مختلف اندوکرینی، پاراکرینی و اشتهازایی می‌باشد.^{۱۰-۱۱} شناسایی سلول‌های بیان‌کننده‌ی گرلین در پانکراس و وجود گیرنده‌های آن روی سلول‌های بتا و آلفای سلول‌های جزایر لانگرهانس نقش گرلین را در تنظیم ترشح انسولین و گلوکاگون و سوخت و ساز کربوهیدرات‌ها مشخص می‌نماید.^{۱۲-۱۴} در یک پژوهشی نشان داده شد، درمان حاد با گرلین افزایش قند خون را در افراد سالم القا کرده و ترشح انسولین را کاهش می‌دهد.^{۱۵} پژوهش دیگری مشخص نمود تجویز داخل صفاقی گرلین به مدت چهار روز غلظت پلاسمای گلوکز را افزایش می‌دهد.^{۱۶} یافته‌های مشابه به وسیله Asakawa و همکاران با موش‌های سوری به دست آمد، آن‌ها اثرات تجویز تکراری گرلین داخل صفاقی روی کنترل قند خون را تحت رژیم پرچرب بررسی کردند. در این شرایط سطح انسولین به وسیله‌ی درمان افزایش یافته بود و غلظت گلوکز خون افزایش متوسطی را نشان می‌داد و اما به سطح معنی‌داری نمی‌رسید.^{۱۷} با توجه به این‌که پژوهش‌های اخیر نشان داده این هورمون می‌تواند در مقابله با مشکلات ناشی از هیپوکسی مفید واقع شود،^{۱۸} و از سوی دیگر اثر گرلین بر سطح گلوکز، وزن بدن، مصرف غذا و هماتوکریت، در مدل هیپوکسی سیستمیک نورموباریک حاد و مزمن بررسی نشده است؛ بنابراین هدف پژوهش کنونی بررسی اثر توام گرلین و هیپوکسی حاد و مزمن بر موارد یاد شده بود.

مواد و روش‌ها

گرلین آسیله از شرکت دارویی (Innovagen - سوئد) خریداری شد و در سالیان به عنوان حلال دارو با غلظت یک میلی‌گرم در ۱۰۰ میکرولیتر حل شده و در دمای ۲۰- نگه‌داری شد. برای تهیه‌ی گرلین با غلظت ۸۰ میکروگرم در کیلوگرم وزن بدن، بلافاصله قبل از تزریق با سالیان ۹/۰٪ رقیق می‌شد.

در پژوهش حاضر ۴۸ سر موش‌های صحرایی نر بالغ نژاد ویستار (با وزن تقریبی ۲۵۰-۲۲۰ گرم) از حیوان‌خانه دانشکده‌ی داروسازی تبریز خریداری شد. حیوانات در شرایط تاریک - روشنایی ۱۲ ساعته، دمای ۲۱±۲ درجه‌ی سانتی‌گراد و رطوبت ۷۰٪ و دسترسی آزاد و کافی به آب و غذا نگه‌داری شدند. در پژوهش حاضر تمام آزمایش‌ها براساس آیین‌نامه‌ی کمیته‌ی اخلاق پژوهشی دانشگاه برای پژوهش‌های حیوانی صورت گرفت.

برای ارزیابی اثر گرلین بر سطح گلوکز، وزن بدن، مصرف غذا، هماتوکریت، ۴۸ سر موش صحرایی به طور تصادفی به ۶ گروه هشت تایی تقسیم شدند.

گروه کنترل حاد در معرض اکسیژن ۲۱٪ (هوای اتاق) قرار گرفتند که سالیان (۱ میلی‌لیتر به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) به مدت دو روز به صورت داخل صفاقی تزریق گردید. گروه هیپوکسی حاد که به مدت ۴۸ ساعت در معرض (اکسیژن ۱۱٪) قرار گرفتند که سالیان به صورت داخل صفاقی روزانه تزریق گردید.^{۱۹}

گروه هیپوکسی حاد+ گرلین که به مدت ۴۸ ساعت در معرض (اکسیژن ۱۱٪) قرار داشتند که در این گروه گرلین (۸۰ میکروگرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) به صورت داخل صفاقی روزانه تزریق گردید.

گروه کنترل مزمن که در معرض اکسیژن ۲۱٪ قرار داشتند که سالیان (۱ میلی‌لیتر به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) به مدت ده روز به صورت داخل صفاقی تزریق می‌شد.

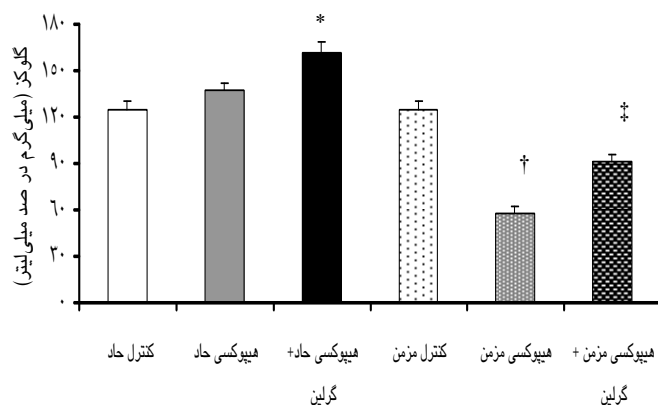
گروه هیپوکسی مزمن که در معرض (اکسیژن ۱۱٪) به مدت ده روز قرار داشتند در این گروه سالیان به صورت داخل صفاقی روزانه تزریق گردید.^{۲۰}

گروه هیپوکسی مزمن + گرلین که در معرض (اکسیژن ۱۱٪) به مدت ده روز قرار داشتند که در این گروه گرلین (۸۰ میکروگرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) به صورت داخل صفاقی روزانه تزریق گردید.

هیپوکسی به وسیله‌ی دستگاه سیستم کامل هیپوکسی GO2 Altitude (شرکت Biomedtech - استرالیا) القا شد که هیپوکسی را بدون نیاز به سیلندر گاز ایجاد می‌کرد. یک حسگر اکسیژن و کنترل کننده در دیواره‌ی اتاقک به منظور کنترل درصد اکسیژن داخل آن تعبیه شده بود.^{۲۱}

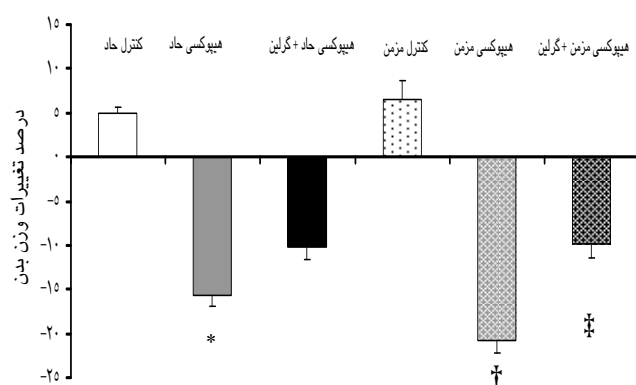
حیوانات گروه‌های هیپوکسی حاد و مزمن در دستگاه سیستم کامل هیپوکسی، به ترتیب به مدت دو و ده روز در شرایط اکسیژن ۱۱٪ قرار گرفتند. این حیوانات تنها ۱۰ دقیقه

(۵۷/۱۲±۴/۷۱) به طور معنی‌داری ($P<0/01$) افزایش داد. (نمودار ۱).



نمودار ۱- میزان گلوکز خون به ترتیب در گروه‌های کنترل حاد و مزمن، هیپوکسی حاد و مزمن و هیپوکسی حاد و مزمن که گریلین به میزان (۸۰ میکروگرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) به طور داخل صفاقی دریافت کردند. هر گروه شامل ۸ موش صحرایی می‌باشد و داده‌ها براساس میانگین ± انحراف معیار بیان شده‌است. با آنالیز تعقیبی (Post hoc) اختلافات نسبت به گروه کنترل حاد و مزمن به ترتیب با * $P<0/05$, † $P<0/01$ و ‡ $P<0/001$ و با گروه هیپوکسی مزمن با ‡ $P<0/001$ نمایش داده شده‌است.

درصد تغییرات وزن در گروه هیپوکسی حاد نسبت به گروه کنترل حاد از لحاظ آماری معنی‌دار ($P<0/01$) بود. تزریق گریلین به مدت دو روز از کاهش بیشتر وزن جلوگیری کرد. همچنین، درصد تغییرات وزن در گروه هیپوکسی مزمن نسبت به گروه کنترل مزمن معنی‌دار ($P<0/01$) بود و تجویز گریلین به مدت ده روز از کاهش وزن به طور معنی‌داری ($P<0/01$) جلوگیری نمود (نمودار ۲).



نمودار ۲- درصد تغییر وزن بدن به ترتیب در گروه‌های کنترل حاد و مزمن، هیپوکسی حاد و مزمن و هیپوکسی حاد و مزمن که گریلین به میزان (۸۰ میکروگرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) به طور داخل صفاقی دریافت کردند. هر گروه شامل ۸ موش صحرایی می‌باشد و داده‌ها براساس میانگین ± انحراف معیار بیان شده‌است. با آنالیز تعقیبی

در روز برای تمیز کردن قفس‌ها و انجام تزریقات از محیط دستگاه خارج می‌شدند.

اندازه‌گیری سطح گلوکز خون (میلی‌گرم در صد میلی‌لیتر) در ساعت‌های قبل از ظهر در حالی که حیوانات دسترسی آزاد به آب و غذا داشتند، از نمونه‌های خون به دست آمده از ورید دمی با استفاده از سیستم استاندارد مانیتورینگ گلوکز انجام شد. به این ترتیب که قطره کوچکی از خون ورید دمی روی نوار گلوکومتر (شرکت Roche) ریخته می‌شد و نتیجه‌ی آزمون بلافاصله خوانده می‌شد.^{۲۰}

وزن (گرم) تمام حیوانات با استفاده از ترازوی دیجیتالی در روز اول و آخر بعد از اتمام دوره هیپوکسی اندازه‌گیری و سپس درصد تغییرات وزن محاسبه شد.

میزان مصرف غذا (گرم) از راه وزن کردن مقدار کاهش یافته غذا بعد از اتمام دوره هیپوکسی به دست آمد.^{۲۱}

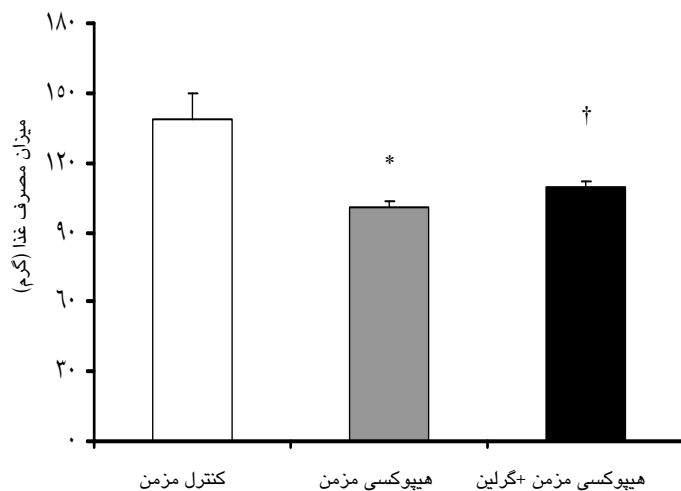
نمونه‌های خون از دم حیوانات جمع‌آوری، و سپس بلافاصله هماتوکریت (درصد) هر حیوان با استفاده از روش میکروهماتوکریت استاندارد اندازه‌گیری گردید.^۷

یافته‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شد. از روش آنالیز واریانس یک‌طرفه برای مقایسه بین گروه‌های مورد بررسی استفاده، و از آزمون توکی به عنوان آزمون تعقیبی استفاده گردید. از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۱۶ برای تجزیه و تحلیل آماری استفاده شد. اختلاف بین گروه‌ها در صورتی معنی‌دار تلقی گردید که $P<0/05$ باشد.

یافته‌ها

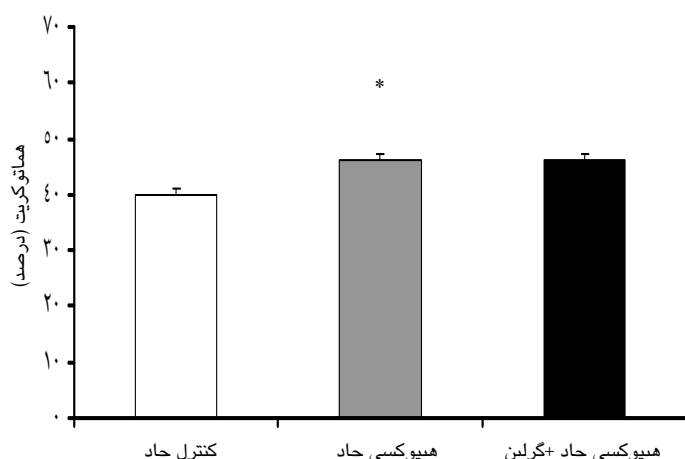
هیپوکسی حاد میزان گلوکز خون ($136/75 \pm 5/34$) را در مقایسه با گروه کنترل حاد ($124/12 \pm 6/8$) اندکی افزایش داد، اگرچه این افزایش تفاوت آماری معنی‌داری نداشت. تجویز گریلین (۸۰ میکروگرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) به مدت دو روز سطح گلوکز خون ($161/5 \pm 7/43$) را به طور معنی‌داری ($P<0/05$) در مقایسه با گروه هیپوکسی حاد ($136/75 \pm 5/34$) افزایش داد.

در گروه هیپوکسی مزمن ($57/12 \pm 4/71$) در مقایسه با گروه کنترل مزمن ($124/12 \pm 6/8$) سطح گلوکز خون ($P<0/01$) به طور معنی‌داری کاهش یافت، و تجویز گریلین به میزان (۸۰ میکروگرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) به صورت داخل صفاقی به مدت ده روز سطح گلوکز خون ($91/62 \pm 4/13$) را در مقایسه با گروه هیپوکسی مزمن



نمودار ۴- میزان مصرف غذا در گروه‌های کنترل مزمن، هیپوکسی مزمن و هیپوکسی مزمن + گرلین (۸۰ میکروگرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) را نشان می‌دهد. هر گروه شامل ۸ موش صحرایی می‌باشد و داده‌ها براساس میانگین $\pm$ انحراف معیار بیان شده‌است. با آنالیز تعقیبی (Post hoc) اختلافات نسبت به گروه کنترل با $P < 0.001$ و با گروه هیپوکسی مزمن با $P < 0.05$ نمایش داده شده است.

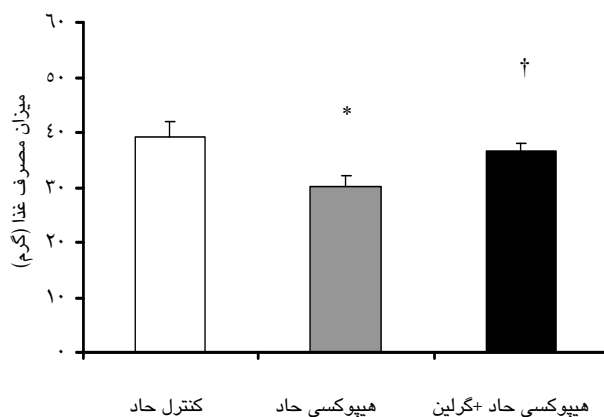
میزان هماتوکریت بعد از القا هیپوکسی حاد در مقایسه با گروه کنترل حاد در سطح معنی‌داری ($P < 0.01$) قرار داشت و تجویز گرلین با دوز ۸۰ میکروگرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، سطح هماتوکریت را در مقایسه با گروه هیپوکسی حاد مختصری افزایش داد، اما تفاوت آماری معنی‌داری نداشت (نمودار ۵).



نمودار ۵- میزان هماتوکریت در گروه‌های کنترل حاد، هیپوکسی حاد و هیپوکسی حاد + گرلین (۸۰ میکروگرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) را نشان می‌دهد. هر گروه شامل ۸ موش صحرایی می‌باشد و داده‌ها براساس میانگین $\pm$ انحراف معیار بیان شده‌است. با آنالیز تعقیبی (Post hoc) اختلافات نسبت به گروه کنترل با $P < 0.01$ نمایش داده شده‌است.

(Post hoc) اختلافات نسبت به گروه کنترل به ترتیب با $P < 0.001$ ، $P < 0.01$ و با گروه هیپوکسی مزمن با $P < 0.001$ نمایش داده شده است.

هیپوکسی حاد میزان مصرف غذا ($30/12 \pm 2$) را در مقایسه با گروه کنترل حاد ($39/25 \pm 3/7$) به طور معنی‌داری ($P < 0.001$) کاهش داد، تجویز گرلین به مدت دو روز میزان مصرف غذا را ($36/5 \pm 1/53$) به طور معنی‌داری ($P < 0.001$) در مقایسه با گروه هیپوکسی حاد ($30/12 \pm 2$) افزایش داد (نمودار ۳).



نمودار ۳- میزان مصرف غذا در گروه‌های کنترل حاد، هیپوکسی حاد و هیپوکسی حاد + گرلین (۸۰ میکروگرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) را نشان می‌دهد. هر گروه شامل ۸ موش صحرایی می‌باشد و داده‌ها براساس میانگین $\pm$ انحراف معیار بیان شده‌است. با آنالیز تعقیبی (Post hoc) اختلافات نسبت به گروه کنترل با $P < 0.001$ و با گروه هیپوکسی حاد با $P < 0.001$ نمایش داده شده است.

هیپوکسی مزمن میزان مصرف غذا ($100/37 \pm 2/59$) را در مقایسه با گروه کنترل مزمن ($138/37 \pm 11/71$) به طور معنی‌داری ($P < 0.001$) کاهش داد، تجویز گرلین به مدت ده روز میزان مصرف غذا را ($109/37 \pm 2/57$) به طور معنی‌داری ($P < 0.05$) در مقایسه با گروه هیپوکسی مزمن ($100/37 \pm 2/59$) افزایش داد (نمودار ۴).

موش‌های چاق سطح قند خون را به طور معنی‌دار کاهش می‌دهد، هم‌خوانی دارد.^{۲۳}

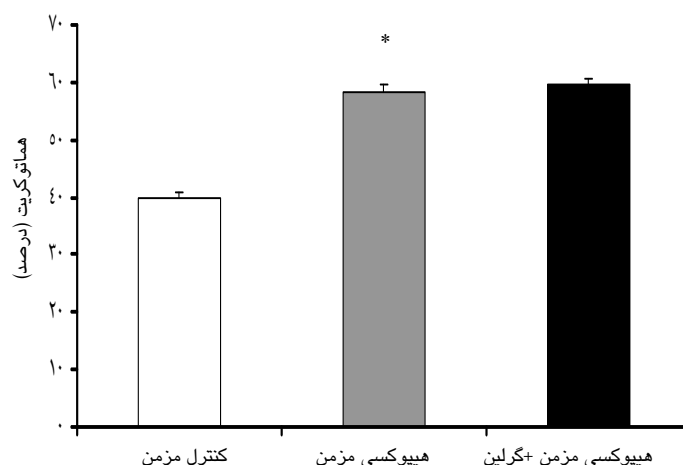
با توجه به یافته‌های به دست آمده در هیپوکسی طولانی مدت، وقتی سازش به هیپوکسی شروع می‌شود دریافت غذا در مقادیر کم حفظ شده و میزان قند خون کاهش می‌یابد. چنین به نظر می‌رسد کاهش دریافت غذا می‌تواند یکی از علل کاهش قند خون در هیپوکسی مزمن باشد. از سوی دیگر پژوهش‌ها نشان می‌دهند هیپوکسی طولانی مدت مانند ورزش با تحریک انتقال GLUT4 به غشا پلاسمایی سبب افزایش برداشت گلوکز و کاهش سطح پلاسمایی آن می‌شود.^{۲۴}

پژوهش کنونی نشان داد تجویز گرلین تحت شرایط هیپوکسی حاد و مزمن در موش‌ها از پایین افتادن گلوکز خون و کاهش مصرف غذا جلوگیری می‌کند. ممکن است بخشی از اثر افزایشی گرلین بر گلوکز خون از راه افزایش مصرف غذا باشد. از سوی دیگر پژوهش‌ها، نقشی را برای گرلین در تنظیم سوخت و ساز گلوکز و نیز تعادل انرژی نشان می‌دهد.^{۲۵} در انسان کاهش قابل توجهی در سطح انسولین سرم و افزایش در غلظت قند خون بعد از تجویز گرلین گزارش شده است.^{۲۶} گرلین ممکن است به طور مستقیم روی سلول‌های بتای جزایر لانگرهانس عمل کند یا به طور غیر مستقیم به وسیله‌ی ترشح هورمون‌های تنظیم کننده‌ی ترشح انسولین یا فعالیت مسیرهای عصبی که عمل سلول‌ها را تنظیم می‌کنند،^{۲۷} اثرات خود را اعمال کند.

از سوی دیگر، گیرنده‌های گرلین در کبد انسان طبیعی وجود دارد^{۲۸} و درمان با گرلین آنزیم کلیدی گلوکونئوژنز (گلوکز -۶ فسفاتاز)، را افزایش می‌دهد. پیشنهاد می‌شود در افزایش گلوکز خون حیوانات درمان شده با گرلین، گلوکونئوژنز کبدی صورت می‌گیرد^{۲۹} و در سلول‌های کبدی گرلین سبب تنظیم افزایشی گلوکونئوژنز می‌شود^{۳۰} که نشان‌دهنده‌ی نقش گرلین در تنظیم سوخت و ساز گلوکز کبدی می‌باشد.

اثر دیگر گرلین روی گلوکز خون ممکن است ناشی از اثرش روی رهایی سایر هورمون‌ها باشد. افزایشی در غلظت گردش خونی اپی نفرین ده دقیقه بعد از تجویز گرلین در مردان گزارش شده است^{۳۱} که می‌تواند سبب افزایش گلوکز شود. همچنین، گرلین موجب افزایش کورتیزول می‌شود^{۳۲،۳۳} که می‌تواند نقشی را در افزایش قند خون ایفا کند.

میزان هماتوکریت در گروه هیپوکسی مزمن نیز در مقایسه با گروه کنترل مزمن تفاوت آماری معنی‌داری ($P < 0.001$) داشت. اما سطح هماتوکریت در گروه هیپوکسی که به طور مزمن گرلین را با دوز یاد شده دریافت نمودند، تغییری نکرد (نمودار ۶).



نمودار ۶- میزان هماتوکریت در گروه‌های کنترل مزمن، هیپوکسی مزمن و هیپوکسی مزمن + گرلین (۸۰ میکروگرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) را نشان می‌دهد. هر گروه شامل ۸ موش صحرایی می‌باشد و داده‌ها براساس میانگین $\pm$ انحراف معیار بیان شده است. با آنالیز تعقیبی (Post hoc) اختلافات نسبت به گروه کنترل با $P < 0.001$ نمایش داده شده است.

بحث

یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد هیپوکسی حاد سبب افزایش مختصر قند خون نسبت به گروه کنترل می‌شود، از سوی دیگر هنگامی که حیوانات در معرض هیپوکسی حاد قرار می‌گرفتند، مصرف غذا به طور معنی‌داری کاهش می‌یافت، به نظر می‌رسد عدم تغییر و یا حتی افزایش مختصر گلوکز در هیپوکسی حاد با توجه به کاهش مصرف غذا به منظور تامین انرژی کافی برای مغز می‌باشد.^{۳۲}

علاوه بر این، پژوهش حاضر نشان داد هیپوکسی مزمن به طور قابل توجهی سطح گلوکز خون و مصرف غذا را کاهش می‌دهد. پژوهش حاضر با پژوهشی که نشان داده بود سطح گلوکز خون در موش‌های صحرایی که به مدت ۱۵ روز در معرض هیپوکسی هیپوباریک قرار داشتند، کاهش معنی‌داری می‌یابد، هم‌خوانی دارد.^{۳۳} همچنین، با پژوهش Polotsky که نشان داد هیپوکسی به مدت ۱۲ هفته در

مبتلا به انسداد مجاری تنفسی و بیماری‌های سیانوتیک قلبی زندگی می‌کنند مفید باشد.

یافته‌های به دست آمده از پژوهش حاضر نشان داد تحت هیپوکسی حاد و مزمن میزان هماتوکریت در مقایسه با گروه کنترل به طور معنی‌دار افزایش می‌یابد. این یافته‌ها با یافته‌های سایر پژوهش‌گران هم‌خوانی دارد.^{۷,۳۶} تجویز حاد و مزمن گرلین داخل صفاقی با دوز ۸۰ میکروگرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن نتوانست سبب افزایش بیشتر در میزان هماتوکریت در موش‌های تحت هیپوکسی شود. این یافته برخلاف یافته‌ی علی‌پور و همکاران بود که در آن پژوهش تجویز گرلین با دوز ۱۵۰ میکروگرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به صورت زیر جلدی برای مدت دو هفته موجب افزایش قابل توجه هماتوکریت گردید.^۷ به نظر می‌رسد در پژوهش حاضر، دوز و یا مدت تجویز گرلین برای افزایش هماتوکریت کافی نبوده است.

یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد تجویز گرلین در تعدیل سطح گلوکز خون، وزن بدن و مصرف غذا تحت شرایط هیپوکسی مفید می‌باشد.

سپاسگزاری: از مرکز تحقیقات علوم اعصاب به دلیل تامین بودجه‌ی تحقیقاتی تشکر و قدردانی می‌گردد. این مقاله از پایان‌نامه‌ی دکترای خانم فضا حسین‌زاده با عنوان "اثر گرلین بر نفوذپذیری سد خونی - مغزی القا شده به وسیله‌ی هیپوکسی سیستمیک حاد و مزمن در موش‌های صحرایی نر بالغ" به دست آمده است.

همچنان‌که یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد هیپوکسی حاد و مزمن به طور قابل توجهی سبب کاهش وزن موش‌ها می‌شود. وزن بدن به طور طبیعی به وسیله‌ی دریافت غذا، مصرف متابولیک و توسط هورمون‌ها تنظیم می‌شود.^{۳۴} استرس هیپوکسی در طی یک یا دو روز اول، موجب کاهش قابل ملاحظه وزن بدن می‌شود.^{۳۵} همچنان‌که یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد هیپوکسی علاوه بر این‌که سبب کاهش اشتها^۷ و دریافت غذا می‌شود، از راه افزایش لیکولیز بی‌هوازی منجر به افزایش مصرف ذخایر انرژی و توده‌ی بدنی شده که در نهایت سبب کاهش وزن بدن می‌شود.^{۳۲}

تجویز گرلین در موش‌های گروه هیپوکسی حاد و مزمن از کاهش بیشتر وزن بدن جلوگیری کرده و سبب افزایش مصرف غذا می‌گردد. در طی پژوهشی نشان دادند هیپوکسی به مدت دو هفته در نوزاد موش‌های صحرایی سبب کاهش سطح گرلین و افزایش سطح لپتین می‌شود.^{۳۶} از آنجا که گرلین یک هورمون محرک اشتها^۷ و لپتین هورمون مهارکننده‌ی تغذیه^{۳۷} می‌باشند، به نظر می‌رسد کاهش سطح گرلین و افزایش لپتین نیز در از دست دادن وزن بدن دخالت دارند.^{۳۶}

با توجه به یافته‌های به دست آمده، کم‌اشتهایی ناشی از هیپوکسی می‌تواند تا حدودی از راه اثر افزایش‌دهی اشتهای گرلین کاسته شود. به این ترتیب، گرلین می‌تواند به عنوان عاملی در بهبود اشتها و مصرف غذا در شرایط هیپوکسی در ارتفاعات و برای اشخاصی که با هیپوکسی مانند بیماران

References

- Carbonell T, Rama R. Respiratory Hypoxia and Oxidative Stress in the Brain. Is the Endogenous Erythropoietin an Antioxidant? *Curr Chem Biol* 2009; 3: 238-52.
- Ali NJ, Pitson DJ, Stradling JR. Snoring, sleep disturbance, and behaviour in 4-5 year olds. *Arch Dis Child* 1993; 68: 60-6.
- Raguso CA, Guinot SL, Janssens JP, Kayser B, Pichard C. Chronic hypoxia: common traits between chronic obstructive pulmonary disease and altitude. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2004; 7: 411-7.
- Zayour D, Azar ST, Azar N, Nasser M, Obeid M, Mroueh S, et al. Endocrine changes in a rat model of chronic hypoxia mimicking cyanotic heart disease. *Endocr Res* 2003; 29: 191-200.
- Brooks GA, Butterfield GE, Wolfe RR, Groves BM, Mazzeo RS, Sutton JR, et al. Increased dependence on blood glucose after acclimatization to 4,300 m. *J Appl Physiol* 1991; 70: 919-27.
- Oltmanns KM, Gehring H, Rudolf S, Schultes B, Rook S, Schweiger U, et al. Hypoxia causes glucose intolerance in humans. *Am J Respir Crit Care Med* 2004; 169: 1231-7.
- Alipour MR, Feizi H, Mohaddes G, Keyhanmanesh R, Khamnei S, Ansarin K, et al. Effect of exogenous ghrelin on body weight and hematocrit of male adult rats in chronic Hypoxia. *Int J Endocrinol Metab* 2010; 8: 201-5.
- Date Y, Kojima M, Hosoda H, Sawaguchi A, Mondal MS, Suganuma T, et al. Ghrelin, a novel growth hormone-releasing acylated peptide, is synthesized in a distinct endocrine cell type in the gastrointestinal tracts of rats and humans. *Endocrinology* 2000; 141: 4255-61.
- van der Lely AJ, Tschöp M, Heiman ML, Ghigo E. Biological, physiological, pathophysiological, and pharmacological aspects of ghrelin. *Endocr Rev* 2004; 25: 426-57.
- 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 nonnatural peptidyl GHS, and GH-releasing hormone. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 1169-74.
- 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. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 5083-6.

12. Prado CL, Pugh-Bernard AE, Elghazi L, Sosa-Pineda B, Sussel L. Ghrelin cells replace insulin-producing beta cells in two mouse models of pancreas development. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101: 2924-9.
13. Prodam F, Bellone S, Corneli G. Ghrelin: A molecular target for weight regulation, glucose and lipid metabolism. *Recent Pat Endocr Metab Immune Drug Discov* 2008; 2: 178-93.
14. Date Y, Nakazato M, Hashiguchi S, Dezaki K, Mondal MS, Hosoda H, et al. Ghrelin is present in pancreatic alpha-cells of humans and rats and stimulates insulin secretion. *Diabetes* 2002; 51: 124-9.
15. 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. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 5083-6.
16. Nieminen P, Mustonen AM. Effects of peripheral ghrelin on the carbohydrate and lipid metabolism of the tundra vole (*Microtus oeconomus*). *Gen Comp Endocrinol* 2004; 138: 182-7.
17. Asakawa A, Inui A, Kaga T, Katsuura G, Fujimiya M, Fujino MA, et al. Antagonism of ghrelin receptor reduces food intake and body weight gain in mice. *Gut* 2003; 52: 947-52.
18. Schwenke DO, Tokudome T, Shirai M, Hosoda H, Horio T, Kishimoto I. Exogenous ghrelin attenuates the progression of chronic hypoxia-induced pulmonary hypertension in conscious rats. *Endocrinology* 2008; 149: 237-44.
19. Bauer AT, Bürgers HF, Rabie T, Marti HH. Matrix metalloproteinase-9 mediates hypoxia-induced vascular leakage in the brain via tight junction rearrangement. *J Cereb Blood Flow Metab* 2010; 30: 837-48.
20. Nooripoor S, Ghorbani R, Azizzadeh F, Danai N, Yazdih M. Evaluating the blood glucose measured via glucometry in diagnosis of hypoglycemia in neonates. *Koomesh* 2012; 13: 440-4. [Farsi]
21. Heinrichs SC, Li DL, Iyengar S. Corticotropin-releasing factor (CRF) or CRF binding-protein ligand inhibitor administration suppresses food intake in mice and elevates body temperature in rats. *Brain Res* 2001; 900: 177-85.
22. Chen XQ, Dong J, Niu CY, Fan JM, Du JZ. Effects of hypoxia on glucose, insulin, glucagon, and modulation by corticotropin-releasing factor receptor type 1 in the rat. *Endocrinology* 2007; 148: 3271-8.
23. Polotsky VY, Li J, Punjabi NM, Rubin AE, Smith PL, Schwartz AR, et al. Intermittent hypoxia increases insulin resistance in genetically obese mice. *J Physiol* 2003; 552: 253-64.
24. Cartee GD, Douen AG, Ramlal T, Klip A, Holloszy JO. Stimulation of glucose transport in skeletal muscle by hypoxia. *J Appl Physiol* 1991; 70: 1593-600.
25. Tong J, Prigeon RL, Davis HW, Bidlingmaier M, Kahn SE, Cummings DE, et al. Ghrelin suppresses glucose-stimulated insulin secretion and deteriorates glucose tolerance in healthy humans. *Diabetes* 2010; 59: 2145-51.
26. 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. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 5083-6.
27. Rizza RA, Mandarino LJ, Gerich JE. Effects of growth hormone on insulin action in man. Mechanisms of insulin resistance, impaired suppression of glucose production, and impaired stimulation of glucose utilization. *Diabetes* 1982; 31: 663-9.
28. Murata M, Okimura Y, Iida K, Matsumoto M, Sowa H, Kaji H, et al. Ghrelin modulates the downstream molecules of insulin signaling in hepatoma cells. *J Biol Chem* 2002; 277: 5667-74.
29. Barazzoni R, Zanetti M, Cattin MR, Visintin L, Vinci P, Cattin L, et al. Ghrelin enhances in vivo skeletal muscle but not liver AKT signaling in rats. *Obesity* 2007; 15: 2614-23.
30. Nakazato M, Murakami N, Date Y, Kojima M, Matsuo H, Kangawa K, et al. A role for ghrelin in the central regulation of feeding. *Nature* 2001; 409: 194-8.
31. Nagaya N, Kojima M, Uematsu M, Yamagishi M, Hosoda H, Oya H, et al. Hemodynamic and hormonal effects of human ghrelin in healthy volunteers. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2001; 280: R1483-7.
32. Takaya K, Ariyasu H, Kanamoto N, Iwakura H, Yoshimoto A, Harada M, et al. Ghrelin strongly stimulates growth hormone release in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85: 4908-11.
33. Muccioli G, Tschöp M, Papotti M, Deghenghi R, Heiman M, Ghigo E. Neuroendocrine and peripheral activities of ghrelin: implications in metabolism and obesity. *Eur J Pharmacol* 2002; 440: 235-54.
34. la Fleur SE, Akana SF, Manalo SL, Dallman MF. Interaction between corticosterone and insulin in obesity: regulation of food intake and fat stores. *Endocrinology* 2004; 145: 2174-85.
35. Xu NY, Chen XQ, Du JZ, Wang TY, Duan C. Intermittent hypoxia causes a suppressed pituitary growth hormone through somatostatin. *Neuro Endocrinol Lett* 2004; 25: 361-7.
36. Chaiban JT, Bitar FF, Azar ST. Effect of chronic hypoxia on leptin, insulin, adiponectin, and ghrelin. *Metabolism* 2008; 57: 1019-22.
37. Shimizu H, Oh-I S, Okada S, Mori M. Inhibition of appetite by nasal leptin administration in rats. *Int J Obes (Lond)* 2005; 29: 858-63.

Original Article

Effects of Ghrelin on Plasma Glucose Levels, Body Weight, Food Intake and Hematocrit in Acute and Chronic Systemic Hypoxia in Adult Male Rats

Babri Sh¹, Mohaddes G¹, Alipour MR², Ebrahimi H¹, Hosseinzadeh F¹

¹Neuroscience Research Center, & ²Tuberculosis and Lung Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, I.R. Iran

e-mail: Hosseinzadeh_fez@yahoo.com

Received: 25/08/2012 Accepted: 03/10/2012

Abstract

Introduction: Acute and chronic hypoxia influence blood glucose levels and decrease body weight. Ghrelin increases appetite and body weight and regulates energy metabolism and also glucose homeostasis. Therefore, in the present study the effects of ghrelin administration on blood glucose, body weight, food intake and hematocrit were investigated in a model of systemic normobaric acute and chronic hypoxia in adult male rats. **Materials and methods:** Forty-eight adult male Wistar rats were divided into six groups [acute control + saline, chronic control + saline, acute or chronic hypoxia + saline, acute or chronic hypoxia + ghrelin (80 µg/kg/day, ip)]. Control groups remained in room air (21% O₂) and hypoxia (11% O₂) induced by a normobaric hypoxic chamber for two days (acute) or ten days (chronic). Blood glucose levels, body weight, food intake and hematocrit were assessed. **Results:** Chronic hypoxia caused a significant ($P<0.001$) decrease in blood glucose levels. Administration of ghrelin increased blood glucose levels significantly in acute ($P<0.05$) and chronic ($P<0.01$) hypoxia. Body weight decreased ($P<0.001$) in both acute and chronic hypoxic groups. Administration of ghrelin could ($P<0.001$) prevent decrease in body weight in chronic hypoxia group. Acute and chronic ($P<0.001$) hypoxia significantly decreased food intake. Ghrelin however increased food intake in both the acute ($P<0.001$) and chronic ($P<0.05$) hypoxia groups. Acute ($P<0.01$) and chronic ($P<0.001$) hypoxia also increased hematocrit. **Conclusion:** Ghrelin administration is useful in modulating blood glucose, body weight and food intake in hypoxic situations.

Keywords: Ghrelin, Hypoxia, Glucose, Hematocrit, Body weight