Physiology and Pharmacology, 12 (2), 142 - 148
Summer 2008 [Article in Persian]

Physiology and Pharmacology

Determination of the effect of the interaction between Ghrelin and serotonin agonist (R)-8-OH-DPAT on the mean plasma concentrations of T3 & T4 in rat

Mozhdeh Mansouri*, Homayoun Khazali

Faculty of Biology, Shahid Beheshti University (G.C.), Tehran, Iran

Received: 11 Dec 2007 Revised: 19 May 2008 Accepted: 25 June 2008

Abstract

Introduction: Previous studies have shown that ghrelin inhibits the activity of Hypothalamus –Pituitary – Thyroid (H–P-T) axis. It is also proved that ghrelin increases the appetite via Agouti Related Protein and neuropeptide Y pathway, decreases T3 and T4 secretion and inhibits serotonin release from hypothalamic synaptosomes. Serotonin may interact with ghrelin over the control of thyroid hormones secretion. Thus, the goal of this study was to determine the influence of the interaction between ghrelin and serotonin agonist on thyroid hormones concentration.

Methods: Twenty four male Wistar rats weighing 230-250 g were randomly divided into 3 groups. The groups received 5 nmol ghrelin, 20 nmol serotonin agonist (R)-8-OH-DPAT or 5 nmol ghrelin together with 20 nmol (R)-8-OH-DPAT in lateral cerebral ventricle in volumes of 5 µl for 3 days . The blood samples were collected everyday, starting one day before and up to one day after injections. Brain slices were taken to ensure that the place of the canulae was right. The plasma was analysed by Radioimmunoassay technique to determine T3 and T4 concentrations.

Results: The results showed that the i.c.v injection of ghrelin significantly decreased and (R)-8-OH-DPAT significantly increased the mean plasma concentrations of thyroid hormones ($p < 0.05$). Co-administration of these two substances showed that (R)-8-OH-DPAT can decrease the inhibitory effect of ghrelin on thyroid hormones concentration, but this effect was not statistically significant ($p<0.05$).

Conclusion: This study showed that ghrelin significantly decreased mean plasma concentration of T3 and T4. Co-administration of a serotonin agonist partially blocked the inhibitory effect of ghrelin on thyroid hormones, but this effect did not reach significance. ($p<0.05$).

Keywords: Ghrelin, Serotonin, Triiodotyronine(T3), Thyroxine(T4), male rat.

* Corresponding author e- mail: mozhdehmansouri@yahoo.com
Available online @: www.phypha.ir/ppj

فیزیولوژی و فارماکولوژی

فیزیولوژی و فارماکولوژی ۱۲ (۲)، ۱۴۲ – ۱۴۸
تابستان ۱۳۸۷

بررسی اثر بر هم کنش گرلین و آگونیست سروتونین (R)-8-OH-DPAT بر میانگین غلظت پلاسمایی هورمون‌های T_3 و T_4 در موش صحرایی

مژده منصوری*، همایون خزعلی
دانشکده علوم زیستی دانشگاه شهید بهشتی تهران

دریافت: آذر ۸۶ بازبینی: اردیبهشت ۸۷ پذیرش: تیر ۸۷

چکیده

مقدمه: مطالعات گذشته نشان داده‌اند که گرلین فعالیت محور هیپوتالاموس – هیپوفیز – تیروئید را مهار می‌کند. گرلین موجب افزایش اشتها از طریق مسیر Agouti Related Protein و نوروپپتید Y، کاهش غلظت هورمون‌های تیروئیدی و مهار ترشح سروتونین از سیناپتوزوم‌های هیپوتالاموسی می‌شود. از آنجا که احتمال دارد سروتونین در تنظیم ترشح هورمون‌های تیروئیدی با گرلین بر هم کنش داشته باشد، هدف از این تحقیق بررسی تاثیر این بر هم کنش بر روی میزان هورمون‌های تیروئیدی می‌باشد. این یک مکانیسم پیشنهادی برای تعیین اثر سروتونین در کم کردن اثر گرلین می‌باشد.

روش‌ها: در این مطالعه ۲۴ عدد موش صحرایی نر از نژاد Wistar به وزن g ۲۵۰– ۲۳۰ به طور تصادفی به ۳ گروه تقسیم شد. گروه‌ها ۵ nmol گرلین، ۲۰ nmol آگونیست سروتونین (R)-8-OH-DPAT و یا ۵ nmol گرلین به همراه ۲۰nmol (R)-8-OH-DPAT را در حجم µl ۵ به مدت ۳ روز از طریق بطن جانبی مغز دریافت کردند. نمونه‌های خونی از یک روز قبل از اولین تزریق تا یک روز پس از آخرین تزریق جمع آوری شدند و برش‌گیری از مغز جهت اطمینان از محل صحیح کانول گذاری صورت گرفت. پلاسمای خونی جهت تعیین میزان هورمون‌های T_3 و T_4 به روش Radio Immunoassay آنالیز گردید.

یافته‌ها: نتایج این تحقیق نشان داد که تزریق درون بطنی گرلین و (R)-8-OH-DPAT به ترتیب موجب کاهش و افزایش معنی‌دار میانگین غلظت پلاسمایی هورمون‌های تیروئیدی می‌گردد ($p<0.05$) و نتایج بر هم کنش این دو ماده نشان داد که (R)-8-OH-DPAT تاثیر مهاری بر اثر کاهشی گرلین روی هورمون‌های تیروئیدی دارد که البته از لحاظ آماری معنی دار نیست ($p<0.05$) .

نتیجه‌گیری: گرلین سبب کاهش معنی دار میانگین غلظت هورمون‌های T_3 و T_4 شده و آگونیست سروتونین در هنگام تزریق به همراه گرلین، به دلیل غلبه گرلین، نتوانسته است اثر مهاری آن را بر غلظت T_3 و T_4 متوقف کند.

واژه‌های کلیدی: گرلین، سروتونین، تری یدوتیرونین(T_3)، تیروکسین(T_4)، موش صحرایی نر.

مقدمه

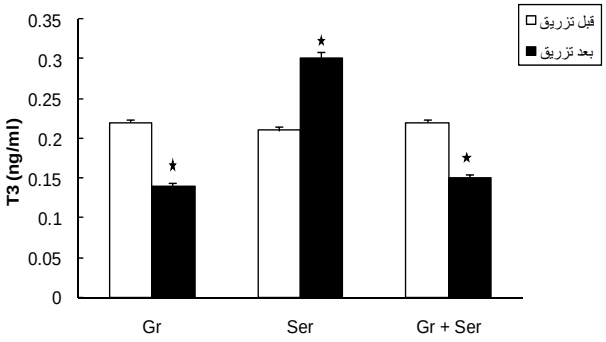
گرلین برای اولین بار در سال ۱۹۹۹ از معده انسان و موش استخراج شد. این هورمون یک پپتید ۲۸ آمینو اسیدی است که به سرین شماره ۳ آن یک اسید چرب متصل شده است. گرلین به طور عمده در معده و مقداری نیز در سایر قسمت‌های دستگاه گوارش از جلمه دئودنوم، ژئوژنوم، ایلیوم و کولون تولید می‌شود. گرلین به علاوه، در سایر اندام‌ها از جمله در مغز، هیپوفیز، پانکراس، کلیه، جفت، سلول‌های لایدیگ و سلول‌های سرتولی نیز به نسبت کمتر تولید می‌شود. مطالعات اخیر نشان داده‌اند که گرلین قوی ترین پپتید تحریک کننده اشتهاست. تزریق گرلین سبب افزایش

* نویسندهٔ مسئول مکاتبات: mozhdehmansouri@yahoo.com
وبگاه مجله: www.phypha.ir/ppj

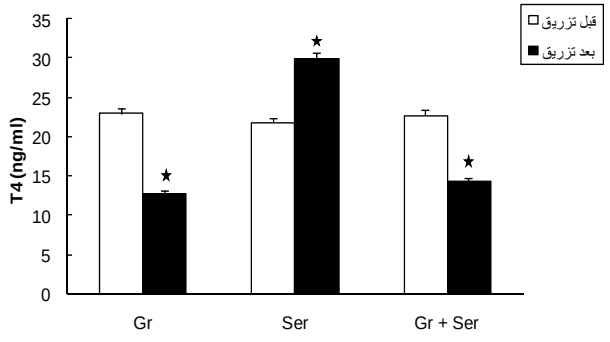
جذب غذا و کاهش مصرف انرژی می‌گردد [۱۶]. گرلین موجب مهار ترشح سروتونین از سیناپتوزوم‌های هیپوتالاموسی می‌شود [۷]. مهم ترین فاکتور برای تنظیم ترشح گرلین، غذا خوردن است. غلظت گرلین پلاسما با گرسنگی افزایش یافته و پس از جذب غذا کاهش می‌یابد [۹]. مقدار گلوکز خون نیز ممکن است در تنظیم ترشح گرلین مهم باشد. تزریق درون رگی گلوکز و یا خوردن آن سبب کاهش غلظت گرلین پلاسما می‌شود. بنابراین می‌توان گفت مقدار گرلین با انسولین پلاسما رابطه عکس دارد [۲۲]. حالات تیروئید هم می‌توانند روی سطح گرلین اثر گذار باشند. کم کاری تیروئید، بر خلاف پر کاری آن، بیان گرلین دستگاه گوارش را افزایش می‌دهد. در بررسی اثر برداشتن تیروئید دیده شد که برخی فعالیت‌های گرلین مانند جذب غذا و افزایش وزن مهار می‌شوند. هورمون‌های تیروئیدی جزء هورمون‌های متابولیک بدن هستند که میزان سوخت و ساز و در نتیجه مصرف انرژی را در بدن افزایش می‌دهند. تغییرات در عملکرد تیروئید باعث تغییرات وسیعی در بدن می‌شود. در زمان متابولیسم پایین، میزان هورمون‌های تیروئیدی کم و در هنگام متابولیسم بالا، این میزان زیاد می‌باشد. هورمون‌های تیروئیدی با توجه به نقش بسیار مهمی که در تنظیم متابولیسم عمومی و رشد بدن و هم چنین در پدیده تمایز بافت‌ها به عهده دارند حائز اهمیت بسیار زیاد می‌باشند [۲]. هورمون T_3 از نظر عملی از هورمون T_4 فعال تر می‌باشد. این هورمون‌ها اعمال فیزیولوژیکی زیادی دارند و برای کل اعمال متابولیکی مانند تغییرات درمصرف اکسیژن و تغییرات در متابولیسم قندها، پروتئین ها، لیپیدها و ویتامین هاضروری می‌باشند. هیپوتیروئیدی و هیپرتیروئیدی از بیماری‌های شایع تیروئید هستند. هورمون‌های تیروئیدی از عوامل اصلی تنظیم رشد و نمو در دوران جنینی هستند و کمبود این هورمون‌ها در دوران جنینی منجر به بروز بیماری کریتینیسم می‌گردد که با شماری از اختلالات مادرزادی و عقب افتادگی عقلانی همراه است [۲]. سروتونین (۵-هیدروکسی تریپتامین) برای اولین بار در سال ۱۹۳۷ از سلول‌های کرومافین موجود در موکوس روده‌ای گوارشی جداسازی شد. سروتونین به مقدار بسیار زیاد در لوله گوارشی انسان سنتز می‌شود (حدود ۹۰٪) و عمده ترین مکان ذخیره آن پلاکت‌های خون هستند. این آمین هتروسیکلیک نقش مهمی در تنظیم دمای بدن، حالات و رفتارها، خواب، استفراغ کردن، توانایی جنسی و اشتها ایفا می‌کند. ساخت آن در مغز، طناب نخاعی، سلول‌های کرومافین دستگاه گوارش، برونشیت‌های تیروئید، پانکراس و تیموس صورت می‌گیرد. سروتونین موجب کاهش اشتها و مصرف انرژی بدن می‌شود [۱۷]. داروهایی که باعث رها شدن سروتونین از نورون‌های تریپتامینرژیک می‌شوند، آمفی تامین و فن فلور آمین هستند. برخی از آنتی دپرسانت‌های تری سیکلیک مثل کلریمپیرامین (کلیپرامین) و آمیتریپتیلین نیز می‌توانند باعث رها شدن سروتونین شوند. مطالعات نشان داده‌اند که گرلین موجب کاهش میانگین غلظت هورمون‌های تیروئیدی می‌شود. هم چنین مطالعاتی نیز برای تعیین تاثیر آگونیست سروتونین بر میزان غلظت هورمون‌های تیروئیدی و نتیجتاً اثر آن بر متابولیسم انجام شده است، که این مطالعات نتایج ضد و نقیضی را ارائه داده اند. حال با توجه به این یافته‌ها و با توجه به این که تاکنون هیچ مطالعه‌ای در زمینه تاثیر بر هم کنش گرلین و آگونیست سروتونین بر روی میزان میانگین غلظت هورمون‌های تیروئیدی انجام نگرفته است، بنابراین هدف از این تحقیق تعیین تاثیر بر هم کنش گرلین و آگونیست سروتونین بر میانگین غلظت هورمون‌های تری یدوتیرونین (T_3) و تیروکسین (T_4) و نتیجتاً متابولیسم بدن می‌باشد. این یک مکانیسم پیشنهادی برای تعیین اثر آگونیست سروتونین در کم کردن اثر گرلین می‌باشد. هم چنین هدف دیگر از این تحقیق پیدا کردن مکانیسم احتمالی نوروترانزمیتورهای گرلین و سروتونین در تاثیر بر ترشح هورمون‌های تیروئیدی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

موش‌های صحرایی نر به وزن ۲۵۰ – ۲۳۰ گرم (خریداری شده از مرکز تحقیقات علوم اعصاب دانشگاه شهید بهشتی تهران) به طور انفرادی در قفس‌های جداگانه تحت شرایط کنترل شده دمایی (۲۲ ± ۲ °C) و نور (۱۲ h روشنایی / ۱۲ h تاریکی، شروع روشنایی از ساعت ۷ صبح) نگهداری شدند و آب



شکل۱- اثر تزریق گرلین (۵ nmol)، آگونیست سروتونین (R)-8-OH-DPAT (۲۰nmol)، و یا گرلین (۵ nmol) به همراه آگونیست سروتونین (R)-8-OH-DPAT (۲۰ nmol) بر میانگین غلظت پلاسمایی هورمون T_3. میانگین داده‌ها به صورت Mean ± S.E.M در نظر گرفته شد. معنی‌دار بودن بعد از تزریق نسبت به حالت قبل از تزریق هر یک از مواد استفاده شده، سنجیده شده است ($p<0.05$).



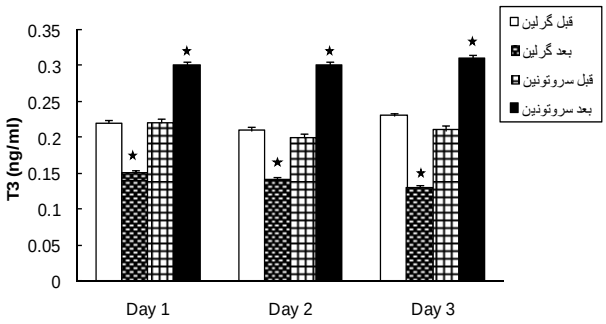
شکل۲- اثر تزریق گرلین (۵ nmol)، آگونیست سروتونین (R)-8-OH-DPAT (۲۰nmol)، و یا گرلین (۵ nmol) به همراه آگونیست سروتونین (R)-8-OH-DPAT (۲۰nmol) بر میانگین غلظت پلاسمایی هورمون T_4. میانگین داده‌ها به صورت Mean ± S.E.M در نظر گرفته شد. معنی‌دار بودن بعد از تزریق نسبت به حالت قبل از تزریق هر یک از مواد استفاده شده، سنجیده شده است ($p<0.05$).

و غذا نیز در اختیار آنها قرار گرفت. برای شروع جراحی، بیهوشی توسط تزریق داخل صفاقی (i.p.) مخلوط کتامین و زایلسین (Ketamine 100 mg/kg BW + Xylazine 15 mg/kg BW) انجام شد.) برای تزریق درون بطن مغز (i.c.v.) (intracerebroventricular)، یک کانول ساخته شده از سرسوزن تزریقی gauge ۲۲ در بطن جانبی طرف راست مغز کاشته شد. مختصات بطن جانبی مغز بر طبق اطلس Paxinos & Watson مشخص شدند: (AP = -0.8 mm , L = -1.6 , DV = 3.2 mm , mm.) بر روی سطح جمجمه، کانول توسط سه پیچ عینک و سیمان دندانپزشکی تثبیت شد [۲۵]. پس از جراحی، موش‌ها در قفس‌های جداگانه نگهداری شدند و پس از یک هفته استراحت، ۵ nmol گرلین (Sigma, USA) و nmol ۲۰ آگونیست سروتونین (R)-8-OH-DPAT (Sigma, USA) (8-hydroxy-2-(di-n- propylamino)tetralin) در حجم ۵ µl و در یک دوره سه روزه به بطن جانبی مغز تزریق شد. تزریق توسط یک سرسوزن تزریقی دندانپزشکی gauge ۲۷ که توسط لوله پلی اتیلنی PE-20 به سرنگ هامیلتون متصل شده بود، انجام گرفت. نمونه‌های خونی از یک روز قبل تا یک روز پس از آخرین تزریق (در روزهایی که عمل تزریق انجام می‌شد قبل و بعد از تزریق) جمع آوری شدند و هپارین جهت جلوگیری از انعقاد خون استفاده شد. خونگیری از چشم هر موش صحرایی قبل و ۲۰ دقیقه بعد از هر تزریق انجام شد و در هر مرحله میزان خون گرفته شده ۱cc بوده و اختلالی در حیوان ایجاد نگردید. نمونه‌های خونی بلافاصله پس از جمع‌آوری به مدت ۱۰ دقیقه در دستگاه سانتریفیوژ با دور ۳۵۰۰ rpm قرار گرفتند و سپس پلاسمای جمع آوری شده تا زمان تجزیه و تحلیل آزمایشگاهی در دمای C ° ۲۰- نگهداری شدند و سپس جهت تعیین میزان هورمون‌های T_3 و T_4 توسط روش رادیوایمونواسی RIA آنالیز گردیدند.

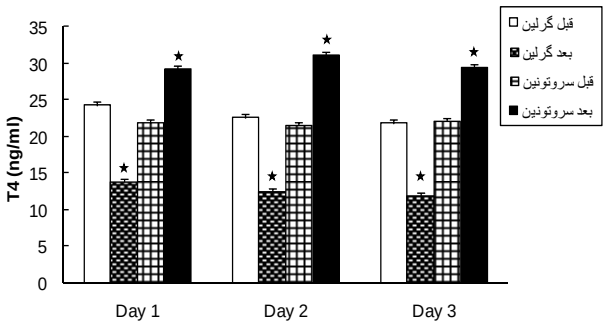
برای تمام داده‌ها خطای معیار و میانگین (Mean ± S.E.M) محاسبه شد. برای بررسی تأثیر تزریق جداگانه گرلین و آگونیست سروتونین و هم چنین تأثیر بر هم کنش آنها بر میانگین غلظت هورمون‌های تیروئیدی از آزمون آماری آنالیز واریانس ANOVA و برای مقایسه میانگین داده‌ها از آزمون Dunken استفاده شد. برای بررسی اثرگرلین و سروتونین و بر هم کنش آن‌ها در هر روز در دوره قبل و بعد تزریق از آزمون t-test و برای مقایسه بین روزهای مختلف نیز از آزمون اندازه‌گیری چند گانه Multiple Measurement Repeated Analysis استفاده شد.($p<0.05$)

یافته‌ها

برای بررسی اثر گرلین، (R)-8-OH-DPAT و یا گرلین به همراه (R)-8-OH-DPAT بر میانگین غلظت پلاسمایی هورمون‌های T_3 و T_4، ۵ nmol/ ۵ µl گرلین، ۲۰ nmol/ ۵ µl (R)-8-OH-DPAT و یا ۵ nmol/ ۵ µl گرلین و ۵ µl/ ۲۰ nmol (R)-8-OH-DPAT در بین ساعت ۸ تا ۱۰ صبح به موش‌ها تزریق شد (n=۸). دوز موثر این مواد بر طبق مقالات پیشین انتخاب شد [۳و۱۵و۲۳و۲۷] و نمونه‌های خونی بیست



شکل۳- تأثیر تزریق متوالی گرلین (۵ nmol) و آگونیست سروتونین (R)-8-OH-DPAT (۲۰ nmol) بر میانگین غلظت پلاسمایی هورمون T_3. میانگین داده‌ها به صورت Mean ± S.E.M در نظر گرفته شد. معنی دار بودن بعد از تزریق نسبت به حالت قبل از تزریق هر یک از مواد استفاده شده، سنجیده شده‌است($p<0.05$) .



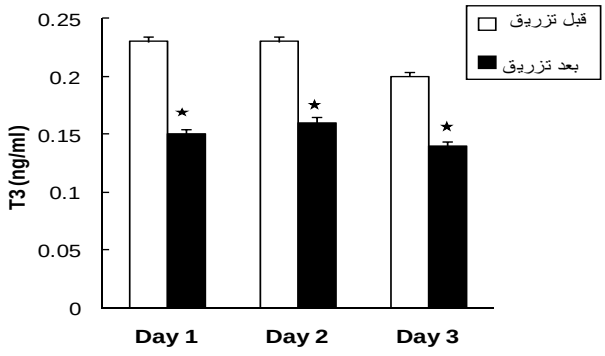
شکل۴- تأثیر تزریق متوالی گرلین (۵ nmol) و آگونیست سروتونین (R)-8-OH-DPAT (۲۰ nmol) بر میانگین غلظت پلاسمایی هورمون T_4. میانگین داده‌ها به صورت Mean ± S.E.M در نظر گرفته شد($p<0.05$). معنی دار بودن در هر روز نسبت به روز قبل از تزریق هر یک از مواد استفاده شده، سنجیده شده‌است($p<0.05$) .

دقیقه پس از تزریق جمع آوری شدند. گرلین میانگین غلظت پلاسمایی T_3و T_4 را به طور معنی داری کاهش داد($p<0.05$)، در حالی که (R)-8-OH-DPAT باعث افزایش معنی دار میانگین غلظت پلاسمایی T_3و T_4 شد ($p<0.05$). نتایج هم چنین نشان داد که اثر مهاری گرلین بر میانگین غلظت پلاسمایی T_3و T_4 به طور معنی داری توسط (R)-8-OH-DPAT متوقف نشد ($p<0.05$) (شکل ۱ و۲).

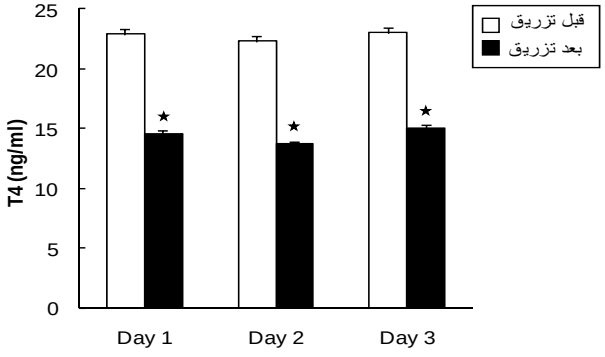
برای بررسی اثر تزریق متوالی گرلین و (R)-8-OH-DPAT بر میانگین غلظت پلاسمایی هورمون‌های T_3 وT_4 و نیز اثر تزریق متوالی گرلین به همراه (R)-8-OH-DPAT بر میانگین غلظت پلاسمایی هورمون‌های T_3 و T_4، ۵ µl /۵ nmol گرلین، ۵ µl /۲۰ nmol (R)-8-OH-DPAT و یا ۵ µl /۵ nmol گرلین و ۵ µl /۲۰ nmol (R)-8-OH-DPAT هر روز یک بار و به مدت سه روز به موش‌ها تزریق شدند. نمونه‌های خونی بیست دقیقه پس از تزریق جمع آوری شدند. در گروه‌های گرلین و (R)-8-OH-DPAT میانگین غلظت پلاسمایی T_3 و T_4 در هر روز به ترتیب کاهش و افزایش معنی دار پیدا کردند ($p<0.05$)، این در حالی بود که در هیچ یک از این دو گروه بین سه روز تزریق اختلاف معنی داری مشاهده نشد ($p<0.05$). در گروه بر هم کنش، تزریق متوالی۵ nmol گرلین و۲۰ nmol (R)-8-OH-DPAT باعث کاهش معنی دار اثر مهاری گرلین بر میانگین غلظت پلاسمایی T_3 و T_4 در هر روز نشد (کاهش روزانه T_3 و T_4 معنی دار بود) و اختلاف معنی داری نیز بین سه روز مشاهده نشد ($p<0.05$) (شکل ۳ و۴ و۵ و۶).

بحث

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که تزریق درون بطن مغزی دوز موثر (R)-8-OH-DPAT موجب افزایش میانگین غلظت هورمون‌های T_3 و T_4 به طور معنی دار و به ترتیب به میزان ٪ ۴۲/۸ و ٪ ۳۶/۶ می‌شود ($p<0.05$). هم چنین نتایج نشان داد که با افزایش روز میزان افزایش در سطح هورمون‌های تیروئیدی تغییری پیدا نمی‌کند. البته سروتونین موجب افزایش بیشتر هورمون T_3 نسبت به هورمون T_4 می‌گردد. هنگامی که هورمون T_3 بالا می‌رود، با تاثیر بر فولیکول‌های تیروئیدی موجب کاهش ترشح هورمون تیروکسین می‌شود. نتایج این آزمایش با نتایج مطالعات Silva J.D. و همکاران [۲۶]، Golstein و همکاران [۱۳] که بر روی موش انجام شده بود، مطابقت دارد، اما با نتایج هلارک و همکاران، کرولیخ و همکاران [۱۹]، بریتزی و همکاران [۶] و چن و همکاران [۸] که آن‌ها نیز بر روی موش انجام شده بود، مطابقت ندارد. یک مکانیسم احتمالی تاثیر افزایشی سروتونین بر روی هورمون‌های T_3 و T_4 از طریق سیستم ملانوکورتین قابل توجیه است. سروتونین نورون‌های پرواپیوملانوکورتین (POMC) موجود در هسته‌های ARC (Arcuate Nucleus) هیپوتالاموس را کنترل می‌کند و شواهد نشان می‌دهند که گیرنده $5\text{-}HT_{2C}$ به این عمل کمک می‌کند [۲۴]. گیرنده‌های سروتونین بر روی نورون هایی هستند که کنترل کننده اشتها هستند و موجب کاهش ترشح (AgRP Agouti Related Protein) و افزایش ترشح (MSH– α



شکل۵- تأثیر تزریق متوالی گرلین (۵ nmol) به همراه آگونیست سروتونین (R)-8-OH-DPAT (۲۰ nmol) بر میانگین غلظت پلاسمایی هورمون T_3. میانگین داده‌ها به صورت Mean ± S.E.M در نظر گرفته شد ($p<0.05$). معنی‌دار بودن در هر روز نسبت به حالت روز قبل از تزریق هر یک از مواد استفاده شده، سنجیده شده است ($p<0.05$).



شکل۶- تأثیر تزریق متوالی گرلین (۵ nmol) به همراه آگونیست سروتونین (R)-8-OH-DPAT (۲۰ nmol) بر میانگین غلظت پلاسمایی هورمون T_4. میانگین داده‌ها به صورت Mean ± S.E.M در نظر گرفته شد ($p<0.05$). معنی‌دار بودن در هر روز نسبت به حالت قبل از تزریق هر یک از مواد استفاده شده، سنجیده شده است($p<0.05$).

α- Melanocyte Stimulating Hormone) می‌شوند. در ARC ترمینال‌های عصبی حاوی α–MSH ، Agouti Related Protein و نوروپپتید Y با جسم سلولی نورون‌های TRH ارتباط نزدیک دارند و از این طریق بیوسنتز TRH در هسته PVN (Paraventricular Nucleus) را تنظیم می‌کنند. لذا افزایش در میزان α– MSH موجب افزایش فسفوریلاسیون پروتئین CREB در بسیاری از زیر بخش‌های PVN از جمله نورون‌های TRH می‌شود که در قسمت پری ونتریکولار زیر بخش‌های Parvocellular این قسمت از هیپوتالاموس قرار گرفته اند. مکانیسم احتمالی دیگری در اثر افزایشی سروتونین بر نورون‌های TRH از طریق سیستم اعصاب سمپاتیک قابل توجیه است. سروتونین از طریق گیرنده‌های $5\text{-}HT_{1B/2C}$ اشتها را کاهش و فعالیت سیستم اعصاب سمپاتیک را افزایش می‌دهد [۵] و به این ترتیب می‌تواند موجب افزایش ترشح هورمون‌های تیروئیدی شود. تزریق درون بطنی دوز موثر گرلین موجب کاهش معنی دار سطح پلاسمایی هورمون‌های تیروئیدی T_3 و T_4به ترتیب به میزان ٪ ۳۶/۳۷ و ٪ ۴۴/۵۴ می‌گردد ($p<0.05$). البته این کاهش در هورمون T_4 نسبت به هورمون T_3 مشهودتر است. هم چنین نتایج نشان داد که با افزایش روز میزان کاهش در سطح هورمون‌های تیروئیدی تغییری پیدا نمی‌کند. زیرا تزریق گرلین از طریق فعال کردن آنزیم دیدیناز موجب افزایش تبدیل هورمون T_4 به T_3 و نیز rT_3 می‌گردد. نتایج این تحقیق منطبق بر مطالعات پیشین است. Wren و همکارانش در سال ۲۰۰۰ گزارش کردند که تزریق داخل بطنی گرلین در موش صحرایی سبب مهار TSH می‌گردد. آن‌ها هم چنین در سال ۲۰۰۱ گزارش دادند که تزریق داخل بطنی گرلین سبب کاهش TSH و هورمون‌های تیروئیدی شد. اما این کاهش از نظر آماری معنی دار نبود [۲۷].

گرلین موجب افزایش ترشح Agouti Related Protein و نورنپپتید Y می‌شود.Agouti Related Protein اثر مهاری بالقوه‌ای بر فعالیت محور هیپوتالاموس– هیپوفیز– تیروئید دارد و از رونویسی ژن TRH در نورون‌های هیپوفیزیوتروفیک PVN جلوگیری می‌کند. زیرا آکسون‌های حاوی Agouti Related Protein به صورت فشرده با نورون‌های هیپوفیزتروفیک TRH پروجکت دارند. هنگام گرسنگی و محرومیت از غذا، سطح pro TRH در PVN و سطح TSH و T_4 در گردش خون کاهش پیدا می‌کند که با افزایش چشمگیر در سنتز نوروپپتید Y و Agouti Related Protein در ARC و رهاسازی آنها در PVN همراه است [۱و۴و۱۱و۱۲و۱۴و۲۰و۲۸]. مکانیسم دیگر عمل Agouti Related Protein و نوروپپتید Y از طریق سیستم ملانوکورتین است. Agouti Related Protein و نوروپپتید Y هر دو می‌توانند از طریق آنتاگونیزه کردن عمل α– MSH بیان ژن TRH در PVN را مهار کنند [۲۴]. به این ترتیب کهAgouti Related Protein با حذف پاسخ cAMP و نوروپپتیدY از طریق ممانعت از فسفوریلاسیون CREB موجب می‌شوند که فعال سازی ژن TRH در PVN که قبلاً توسط

α– MSH القاء شده بود، مهار شود. آنالیز حاصل از این داده‌ها نشان داد که تزریق داخل بطنی گرلین به همراه (R)-8-OH-DPAT اثر مهاری گرلین بر غلظت هورمون‌های T_3 و T_4 را کاهش می‌دهد، ولی این کاهش از نظر آماری معنی دار نیست ($p<0.05$) و در اینجا نیز به دلیل غلبه گرلین بر (R)-8-OH-DPAT شاهد کاهش معنی دار میانگین غلظت پلاسمایی هورمون‌های T_3 و T_4 به ترتیب به میزان ٪ ۳۱/۸۲ و ٪ ۳۶/۵۷ هستیم ($p<0.05$). با افزایش زمان تاثیری بر میزان متوقف کردن اثر مهاری گرلین در غلظت هورمون‌های تیروئیدی توسط (R)-8-OH-DPAT مشاهده نشد. پس (R)-8-OH-DPAT نمی‌تواند به طور معنی داری اثر گرلین را خنثی کند. به عبارت دیگر احتمال دارد که سروتونین عمل خود را از مسیری جدا از مسیر گرلین اعمال کند. البته در اینجا می‌توان دو فرضیه را در رابطه با عدم متوقف شدن اثر مهاری گرلین بر میانگین غلظت هورمون‌های تیروئیدی توسط (R)-8-OH-DPAT مطرح کرد که عبارتند از: ممکن است در مسیر اِعمال اثر بر محور تیروئیدی، گرلین و سروتونین از گیرنده‌های مختلف خود که مستقل از یکدیگر هستند عمل کرده باشند. به همین علت سروتونین علیرغم افزایش دادن میزان غلظت هورمون‌های تیروئیدی، نتوانست عمل کاهشی گرلین را خنثی کند.

دوز موثر سروتونین توانست در مسیر خود غلظت هورمون‌های تیروئیدی را افزایش دهد، اما در بر هم کنش نتوانست اثر گرلین را مهار کند. پس احتمال می‌رود که تزریق سروتونین پس از تزریق گرلین موجب فعال کردن نورون‌های واسطه یا Inter Neuronها در مسیر عصبی دیگری به جز مسیر عصبی گرلین شود و از این طریق اثر خود را اِعمال کند.

نتایج این تحقیق بیانگر آن است که گرلین سبب کاهش میانگین غلظت هورمون‌های T_3 و T_4 شده و آگونیست سروتونین نتوانسته است این اثر مهاری گرلین بر غلظت T_3 و T_4 را متوقف کند.

سپاسگزاری

در پایان، از همکاری خانم دکتر فرشته معتمدی و آقای دکتر ابوالحسن احمدیانی و آقای غفاری در بخش فیزیولوژی و فارماکولوژی مرکز تحقیقات علوم اعصاب دانشکده پزشکی دانشگاه شهید بهشتی تشکر می‌نمائیم.

منابع

[۱] مسلمی پور ف، خزعلی ه، امامی میبدی م، بررسی اثر تزریق درون رگی نوروپپتید Y بر غلظت پلاسمایی هورمون‌های تیروکسین و تری یدوتیرونین در بز. ***فیزیولوژی و فارماکولوژی*** ۱۰ (۱۳۸۵) ۲۲۷ تا ۲۱۹.

[۲] شکر اللهی ب، اثر آگونیست سروتونین بر غلظت پلاسمایی هورمون رشد، هورمون های تیروئیدی و افزایش وزن در بره. ***پایان نامه دوره کارشناسی ارشد***، تهران: دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، ۱۳۸۲.

[3] Anderson IK, Martin GR, Ramage AG, Central administration of 5-HT activates 5-HT_{1A} receptors to cause sympathoexcitation and 5-HT_2/5-HT_{1C} receptors to release vasopressin in anaesthetized rats. ***Br J Pharmacol*** 107 (1992) 1020-1028.

[4] Billington CJ, Briggs JE, Harker S, Grace M, Levine AS, Neuropeptide Y in hypothalamic paraventricular nucleus: a center coordinating energy metabolism. ***Am J Physiol*** 266 (1994) 1765-1770.

[5] Bray GA, Reciprocal relation of food intake & sympathetic activity: experimental observations and clinical implications. ***Int J Obes Relat Metab Disord*** 24 (2000) 8- 17.

[6] Brizzi G, Carella C, Foglia MC, Frigino M, Thyroid hormone plasmatic levels in rats treated with serotonin in acute & chronic way. ***J Physiol Paris*** 91 (1997) 307-310.

[7] Brunetti L, Lucia R, Orlando G, Michelotto B, Di Nisio C, Vacca M, Effects of ghrelin and amylin on dopamine, norepinephrine & serotonin release in the hypothalamus. ***Eur J Pharmacol*** 454 (2002) 189- 192.

[8] Chen YF, Ramirez VD, Serotonin stimulates thryptophan releasing hormone from superfused rat hypothalami. ***Endocrinology*** 108 (1981) 2359- 2366.

[9] Erdmann J, Lippi F, Schusdziarra V, Differential effect of protein and fat on plasma ghrelin levels in man. ***Regul Peptides*** 116 (2003) 101- 107.

[10] Erickson JC, Ahima RS, Hollopeter G, Flier JS, Palmiter RD, Endocrine function of neuropeptide Y knockout mice. ***Regul Peptides*** 70 (1997) 199-202.

[11] Fekete C, Kelly J, Mihaly E, Sarkar S, Rand WM, Legradi G, Emerson CH, Lechan RM, Neuropeptide Y has a central inhibitory action on the hypothalamus-pituitary-thyroid axis. ***Endocrinology*** 142 (2001) 2606- 2613.

[12] Fekete C, Sarkar S, Rand WM, Harney JW, Emerson CH,

Bianco AC, Lechan RM, 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 (2002) 3846- 3853.

[13] Golstein J, Schreiber S, Velkeniers B, Vanhaelst L, Effect of flouxetine, a serotonin reuptake inhibitor, on the hypothalamus-pituitary-thyroid axis in rat. ***Eur J Pharmacol*** 91 (1983) 239-243.

[14] Harfstrand A, Eneroth P, Agnati L, Fuxe K, Further studies on the effects of central administration of neuropeptide Y on neuroendocrine function in the male rat: relationship to hypothalamic catecholamines. ***Regul Peptides*** 17 (1987) 167-179.

[15] Hashimoto H, Fujihara H, Kawasaki M, Saito T, Shibata M, Otsubo H, Takei Y, Ueta Y, Centrally and peripherally administered ghrelin potently inhibits water intake in rats. ***Endocrinology*** 148 (2006) 1638-1647.

[16] Holst B, Holliday ND, Bach A, Elling CE, Cox HM, Ghrelin receptor family. ***J Biol Chem***1 (2004) 53806 - 53817.

[17] Kema IP, Elisabeth GE, De Vries F, Muskiet AJ, Clinical chemistry of serotonin and metabolites. ***J Chromatogr*** 747 (2000) 33- 38.

[18] Kim MS, Small CJ, Stanley SA, Morgan DG, Seal LJ, Kong WM, Edwards CM, Abusnana S, Sunter D, Ghatei MA, Bloom SR, The central melanocortin system affects the hypothalamus-pituitary-thyroid axis and may mediate the effect of leptin. ***J Clin Invest*** 105 (2000) 1005-1011.

[19] Krulich L, Vigan E, Copping RJ, Giachetti A, Mcann SM, Mayfield MF, On the role of central serotonergic system in regulation of the secretion of thyrotropin and prolactin: Thyrotropin inhibiting and prolactin releasing effects of 5-Hydroxytryptamine and quipazine in the male rat. ***Endocrinology*** 105 (1979) 276- 283.

[20] Lechan RM, 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 Neurosci*** 20 (2000) 1550-1558.

[21] Legradi G, Lechan RM, The arcuate nucleus is the major source for neuropeptide Y innervation of thyrotropin-releasing hormone neurons in the hypothalamic paraventricular nucleus. ***Endocrinology*** 193 (1998) 3262-3270.

[22] Purnell JG, Weigle DS, Breen P, Cimmings DE, Ghrelin level correlate with insulin levels, insulin resistance, and high-density lipoprotein cholestrole, but not with gender, menopausal status, or cortisol levels in humans. ***J Clin Endocrinol Metab*** 88 (2003) 5747- 5752.

[23] Saphier D, Farrar GE, Welch JE, Differential inhibition of stress-induced adrenocortical responses by 5-HT_{1A} agonists and by 5-HT_2 and 5-HT_3 antagonists. ***Psychoneuroendocrinology*** 20 (1995) 239-257.

[24] Sarkar S, Lechan RM, Central administration of NPY reduces α-MSH induced cyclic adenosine 5′-monophosphate response element binding protein (CREB) phosphorylation in pro-thyrotropin releasing hormone neurons and increases CREB phosphorylation in CRH neurons. ***Endocrinology*** 144 (2003) 281- 291.

[25] Sarkar S, Legradi G, Lechan RM, Intracerebroventricular administration of α-melanocyte stimulating hormone increases phosphorylation of CREB in TRH- and CRH-producing neurons of the hypothalamic paraventricular nucleus. ***Brain Res*** 945 (2002) 50- 59.

[26] Silva JD, Nunes MT, Facilitatory role of serotonin (5-HT) in the control of thyrotropin releasing hormone/thyrotropin (TRH/TSH) secretion in male rats. ***Braz J Med Biol Res*** 29 (1996) 677- 683.

[27] Wren AM, Small CJ, Abbott CR, Dhillo WS, Seal LJ, Cohen MA, Batterham RL, Taheri S, Stanely SA, Ghatei MA, Bloom SR, Ghrelin causes hyperphagia and obesity in rats. ***Diabetes*** 50 (2001) 2540- 2547.

[28] Wittmann G, Liposits Z, Lechan RM, Feckete C, Medullary adrenergic neurons contribute to neuropeptide Yergic innervation of hypophysiotrophic thyrotropin-releasing hormone- synthesizing neurons in rats. ***Neurosci Lett*** 324 (2002) 69-73.