

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



دانشکده علوم زیستی
پایان نامه دوره کارشناسی ارشد زیست شناسی
فیزیولوژی جانوری

عنوان

اثرات تزریق درون وریدی گرلین بر میانگین غلظت پلاسمایی هورمون
انسولین و هورمون آدرنوکورتیکوتروپین (ACTH) در شترهای نابالغ یک
کوهانه با رژیم های غذایی متفاوت

استاد راهنما

دکتر همایون خزعلی

استاد مشاور

دکتر محمدعلی امامی

۱۳۸۹ / ۷ / ۲۴

نگارش

روشنک راشدی

روز اطلاعات درک علمی بابت
منته درک

بهمن ماه ۸۸

۱۴۲۹۲۵



دانشگاه شهید بهشتی

تاریخ
شماره
پیوست

بسمه تعالی

« صور تجلسه دفاع پایان نامه دانشجویان دوره کارشناسی ارشد »

تهران ۱۹۸۳۹۶۳۱۱۳ اوین

تلفن: ۲۹۹۰۱

بازگشت به مجوز دفاع شماره ۲۰۰/۴۲۴۳/د مورخ ۸۸/۱۱/۹ جلسه هیأت داوران
ارزیابی پایان نامه خانم روشنک راشدی به شماره شناسنامه ۱۱۵۶ صادره از اردبیل
متولد ۱۳۶۳ دانشجوی دوره کارشناسی ارشد ناپیوسته رشته زیست شناسی - علوم
جانوری - فیزیولوژی جانوری
با عنوان :

بررسی اثرات گرلین روی غلظت انسولین و هورمون های فوق کلیوی
شتر

به راهنمایی:

۱- آقای دکتر همایون خزعلی

طبق دعوت قبلی در تاریخ ۱۳۸۸/۱۱/۱۱ تشکیل گردید و براساس رأی هیأت داوری و با
عنایت به ماده ۲۰ آئین نامه کارشناسی ارشد مورخ ۷۵/۱۰/۲۵ پایان نامه مزبور با
نمره ۲۰/۱ و درجه عالی مورد تصویب قرار گرفت.

۱- استاد راهنما: آقای دکتر همایون خزعلی

۲- استاد مشاور: آقای دکتر محمد علی امامی

۳- استاد داور: آقای دکتر حسن رکنی

۴- استاد داور و نماینده تحصیلات تکمیلی: آقای دکتر شاهرخ پاشایی راد

پروردگارا!

در تمام زندگیم، چشم به آسمان دوخته ام و سر بر آستان کبریایی تو...
بارالها! تسبیح گوی توام و چشم در چشم افق دوخته ام و در مدار نگاهم نظاره
گر کهکشان مهربانی توام...

یا نور! هیچ یاریگری نیست جز مهربانی تو، پس دستم بگیر...

هیچ تکیه گاهی نیست جز پناهگاه مودت و رحمت تو، مرا نزد خویش بپذیر...
مهربانا! تا همیشه نیازم را با بی نیازی وجودت یک رنگ کن... تا وجودم را در
اقیانوس بی کران رحمت غرق کنم...

ای بهترین! ای مهربان ترین! مرا در میهمانی بندگانت بپذیر و از خویش مران که
بی تو حیرانم و سرگردان...

«تشکر و قدردانی»

آموختن، سرود جاری انسان در موسیقی حیات هستی است و چه آوازی
خوشترا از گلوآژه های عاطفه، انسانیت، محبت و دوستی.

به راستی آموزگاران این درس بزرگ به مانند جواهر و مرواریدند که با ندای
خویش همچون دم مسیح، حیات بخش جسم و روح بی جان انسانها هستند.

نمی دانم با چه واژه ای این همه ارزش والا را بنگارم.

فقط میگویم:

استاد ارجمند و بزرگوار جناب آقای دکتر همایون خزعلی به خاطر همه ی
خوبیها و راهنمایی هایتان بی نهایت سپاس گزارم و برایتان از خدای متعال بهترین
ها را خواستارم.

از اساتید محترم آقایان دکتر محمد علی امامی، دکتر شاهرخ پاشایی و دکتر حسن
رکنی که زحمت داوری پایان نامه را بر عهده داشتند صمیمانه سپاسگذارم.

هم چنین از جناب آقای دکتر نجفی بخاطر راهنمایی های ارزشمندشان کمال

کمال سپاس و امتنان را دارم.

و قدردان همه ی اساتید و دوستانی هستم که مرا در پیمودن این راه یاری فرمودند

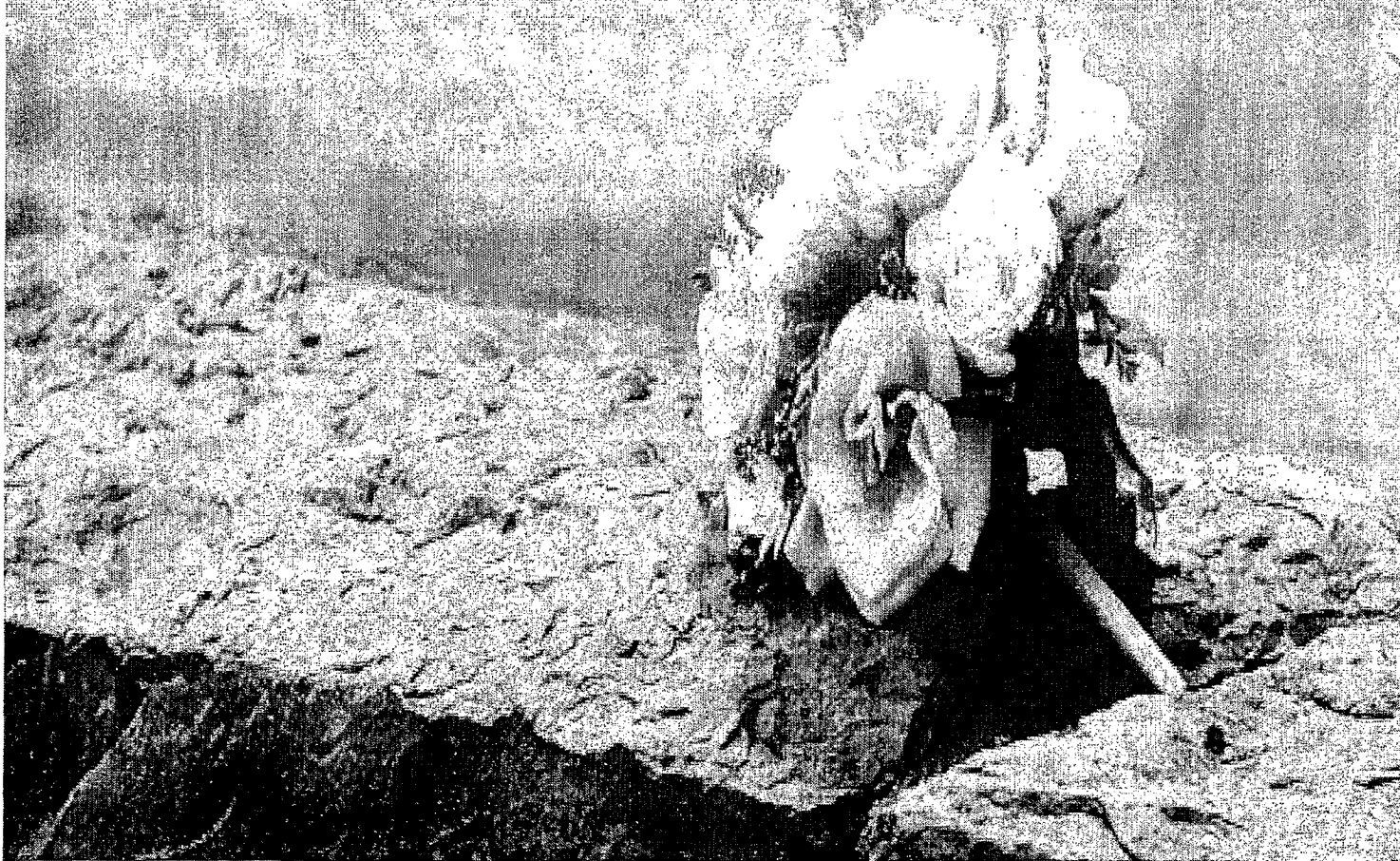
و سلامتی و موفقیت همگی عزیزان را از دانای مهربان خواستارم.

با کمال خضوع تقدیم به

پدرم که بودنش صادقانه ترین تفسیر برای عشق بی تردیدم و سایه
ساز وجود نازنینش زیباترین آهنگ زندگیم است

و

مادرم که وجودش همواره آوای غزل محبت و مهربانی را در گوشه
بی ترانه تنهایی ام طنین انداز می کند.



چکیده

گرلین یک هورمون پپتیدی مترشحه از معده با اثرات مختلف پاراکرینی و آندوکرینی می باشد. گرلین و mRNA ی آن مانند رسپتور هورمون محرک رشد در پانکراس و سلول های ایسلیت بیان شده و متابولیسم گلوکز و ترشح انسولین را تنظیم می کند. هم چنین مطالعات ایمنورادیواکتیو بر روی گرلین، وجود میزان زیادی از این نوروترانسمیتررا در هیپوتالاموس و قسمتهایی از مغز که کنترل کننده ی محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-آدرنال (HPA) هستند ثابت کرده است، بنابراین گرلین می تواند روی ترشحات ACTH اثرگذار باشد. از آنجا که تاکنون آزمایشات مبنی بر اثر گرلین بر ترشح هورمون های انسولین و ACTH در حیوانات نشخوارکننده ی کاذب در مرحله ی قبل از بلوغ انجام نشده است، بنابراین هدف از انجام این تحقیق بررسی اثر گرلین بر روی ترشح هورمون های مذکور در شترهای نابالغ بود. بدین منظور ۱۲ شتر بطور تصادفی به دو گروه تقسیم شدند. حیوانات در گروه یک به مدت دو هفته در رژیم غذایی ۱۰۰٪ و حیوانات گروه دو به مدت دو هفته در رژیم غذایی ۵۰٪ تغذیه شدند بعد از دو هفته، شترهای هر گروه $8 \mu\text{g}/\text{kg BW}$ گرلین به مدت چهار روز از طریق ورید و داج دریافت کردند. نمونه های خونی از تمام حیوانات ۲۰ دقیقه بعد از تزریق گرلین از رگ و داج جمع آوری گردیده و پلاسماهای خونی، جهت تعیین غلظت انسولین و ACTH بوسیله ی روش رادیوایمنواسی (RIA) مورد سنجش قرار گرفتند. تزریق گرلین در شترهای نابالغ در رژیم های غذایی ۵۰٪ و ۱۰۰٪ بترتیب اثر کاهشی قابل ملاحظه ای بر میانگین غلظت پلاسمایی انسولین و اثر افزایشی معنی داری بر ترشح ACTH داشت.

نتایج این تحقیق نشان می دهد که اثر کاهشی گرلین بر ترشح هورمون انسولین و اثر افزایشی آن در ترشح ACTH در شترهای نابالغ تحت شرایط گرسنگی، به وجود گلوکز در بدن بستگی دارد.

واژه های کلیدی: گرلین، هورمون انسولین، هورمون محرک فوق کلیوی (ACTH)، شتر نابالغ

« أَفَلَا يَنْظُرُونَ إِلَى الْإِبِلِ كَيْفَ خُلِقَتْ ... »

« آیا در خلقت شتر نمی نگرند که چگونه به انواع حکمت و

منفعت برای بشر خلق شده است ... »

سوره الخاشیه - آیه ۱۷

فصل اول : مقدمه

مقدمه ۲

فصل دوم : مروری بر منابع علمی

۱-۲- مروری بر مطالعات گذشته گرلین ۷

۱-۱-۲- تاریخچه ی کشف گرلین ۷

۲-۱-۲- ساختمان گرلین ۸

۳-۱-۲- جایگاه ژنی گرلین ۱۱

۴-۱-۲- رسپتور گرلین و جایگاه ژنی آن ۱۲

۵-۱-۲- توزیع گیرنده های گرلین ۱۴

۱-۵-۱-۲- سیستم عصبی مرکزی ۱۴

۲-۵-۱-۲- اندام های محیطی ۱۴

۶-۱-۲- مکانیسم عمل گیرنده ی گرلین ۱۵

۷-۱-۲- میزان گرلین در پلاسما ۱۶

۸-۱-۲- سلولهای تولید کننده ی گرلین ۱۷

- ۲۰..... ۹-۱-۲ عوامل مؤثر در تنظیم ترشح گرلین
- ۲۰..... ۱-۹-۱-۲ تأثیر وعده های غذایی
- ۲۰..... ۲-۹-۱-۲ تأثیر هورمون رشد
- ۲۱..... ۳-۹-۱-۲ تأثیر چاقی بر ترشح گرلین
- ۲۱..... ۴-۹-۱-۲ تأثیر خواب و سن بر ترشح گرلین
- ۲۱..... ۵-۹-۱-۲ تأثیر لپتین بر ترشح گرلین
- ۲۱..... ۶-۹-۱-۲ اثر سایر هورمون ها بر ترشح گرلین
- ۲۲..... ۱۰-۱-۲ اعمال فیزیولوژیک گرلین
- ۲۳..... ۱۱-۱-۲ اثرات گرلین بر هورمونهای هیپوفیزی و هیپوتالاموسی
- ۲۳..... ۱-۱۱-۱-۲ اثر گرلین در افزایش ترشح هورمون رشد
- ۲۵..... ۲-۱۱-۱-۲ اثر گرلین بر محور H-P-A
- ۲۵..... ۳-۱۱-۱-۲ اثر گرلین بر محور تولید مثلی
- ۲۶..... ۴-۱۱-۱-۲ اثر گرلین بر محور H-P-T
- ۲۷..... ۵-۱۱-۱-۲ اثر گرلین بر ترشح انسولین
- ۲۸..... ۱۲-۱-۲ نقش گرلین در تنظیم اشتها
- ۲۸..... ۱-۱۲-۱-۲ تنظیم هیپوتالاموسی اشتها
- ۲۸..... ۲-۱۲-۱-۲ نورون های گرلین در ناحیه تنظیم کننده ی اشتها در هیپوتالاموس

۲-۲- هورمون انسولین

- ۳۰..... ۱-۲-۲- آناتومی غده ی پانکراس (لوزالمعده)
- ۳۱..... ۱-۱-۲-۲- قسمت مترشحه خارجی لوزالمعده
- ۳۱..... ۲-۱-۲-۲- قسمت مترشحه داخلی لوزالمعده
- ۳۲..... ۲-۲-۲- ساختمان شیمیایی هورمون انسولین
- ۳۳..... ۳-۲-۲- مراحل سنتز و ترشح هورمون انسولین
- ۳۵..... ۴-۲-۲- غلظت های پلاسمایی هورمون انسولین، اتصال و متابولیسم
- ۳۶..... ۵-۲-۲- عوامل و شرایطی که ترشح انسولین را افزایش و یا کاهش می دهند
- ۳۷..... ۶-۲-۲- تنظیم سنتز و ترشح انسولین
- ۳۷..... ۷-۲-۲- رسپتور هورمون انسولین
- ۳۸..... ۸-۲-۲- اعمال فیزیولوژیک هورمون انسولین
- ۳۹..... ۱-۸-۲-۲- اثرات انسولین بر متابولیسم کربو هیدراتها
- ۴۰..... ۲-۸-۲-۲- اثرات انسولین بر متابولیسم چربیها
- ۴۰..... ۳-۸-۲-۲- اثرات انسولین بر متابولیسم پروتئین ها و رشد
- ۴۱..... ۹-۲-۲- بیماریهای ناشی از بروز اختلال در ترشح انسولین

۳-۲- ACTH (آدرنوکورتیکوتروپین هورمون)

- ۴۲..... ۱-۳-۲- ساختمان شیمیایی و سنتز کورتیکوتروپین ACTH

۴۴..... ACTH عمل ۲-۳-۲

۴۴..... ACTH ترشح فیزیولوژی ۳-۳-۲

۴۶..... ACTH (از طریق فاکتور هیپوتالاموسی) کنترل ترشح ۴-۳-۲

۴۸..... ACTH با ترشح استرس و رابطه ی آن ۵-۳-۲

۴۸..... ACTH بر دیگر های اثر هورمون ۶-۳-۲

۴۹..... (آدرنال) غده فوق کلیه ۷-۳-۲

۴۹..... بخش قشری غده آدرنال ۱-۷-۳-۲

۵۰..... بخش مرکزی غده آدرنال ۲-۷-۳-۲

۵۱..... پاسخ استرس ۸-۳-۲

۵۲..... پاسخ استرس و محور HPA ۹-۳-۲

۵۳..... نقش و اثرات مرکزی CRH در تغذیه ۱۰-۳-۲

۵۳..... بیماری های ناشی از اختلالات غده ی فوق کلیوی ۱۱-۳-۲

فصل سوم : مواد و روشها

۵۶..... وسایل مورد نیاز برای آزمایش ۱-۳

۵۶..... مواد مورد نیاز برای آزمایش ۲-۳

۵۶..... دستگاه های استفاده شده ۳-۳

۵۷..... محل آزمایش ۴-۳

۵۸..... ۵-۳ واحدهای آزمایشی

۵۸..... ۶-۳ تغذیه و شرایط نگهداری حیوان

۵۹..... ۷-۳ تیمارهای آزمایش

۵۹..... ۸-۳ خون گیری

۶۰..... ۹-۳ سنجش هورمونی نمونه‌های خونی

۶۰..... ۱-۹-۳ اجزای کیت انسولین

۶۱..... ۲-۹-۳ اجزای کیت ACTH

۶۱..... ۱۰-۳ طرح آماری و تجزیه و تحلیل داده‌ها

فصل چهارم : نتایج

۶۳..... ۱-۴ غلظت هورمون ها در پلاسمای خون

۶۳..... ۱-۱-۴ هورمون انسولین

۶۴..... ۱-۱-۱-۴ تیمار آزمایش

۶۸..... ۲-۱-۴ ACTH

۶۹..... ۱-۲-۱-۴ تیمار آزمایش

فصل پنجم : بحث و پیشنهادات

۷۴..... ۱-۵ هورمون انسولین

۷۷..... نتیجه گیری کلی ۱-۱-۵

۷۸..... ACTH -۲-۵

۸۱..... نتیجه گیری کلی ۱-۲-۵

۸۲..... پیشنهادات ۳-۵

۸۴..... منابع علمی

فهرست اشکال

۹..... شکل ۱-۲

۹..... شکل ۲-۲

۱۲..... شکل ۳-۲

۱۳..... شکل ۴-۲

۱۵..... شکل ۵-۲

۱۶..... شکل ۶-۲

۱۸..... شکل ۷-۲

۲۳..... شکل ۸-۲

۲۵..... شکل ۹-۲

۳۰..... شکل ۱۰-۲

۳۴..... شکل ۱۱-۲

شکل ۲-۱۲ ۳۵

شکل ۲-۱۳ ۳۸

شکل ۲-۱۴ ۴۰

شکل ۲-۱۵ ۴۴

شکل ۲-۱۶ ۴۷

فهرست جداول

جدول ۴-۱ ۶۴

جدول ۴-۲ ۶۹

فهرست نمودارها

نمودار ۴-۱ ۶۵

نمودار ۴-۲ ۶۶

نمودار ۴-۳ ۶۷

نمودار ۴-۴ ۷۰

نمودار ۴-۵ ۷۱

نمودار ۴-۶ ۷۲

فصل اول

مقدمه

در دسامبر سال ۱۹۹۹ گرلین برای اولین بار توسط کوچیما و همکارانش از معده ی رت جدا سازی شد و بعنوان لیگاند درونی برای گیرنده ی GHSR-1a مطرح گردید.

Kojima M, et al. (1999).

گرلین یک هورمون پپتیدی اورکسیژنیک ۲۸ اسیدآمینو ای است که عمدتاً از سلول های آندوکرینی X-A like cell معده ترشح می شود. از آن جاییکه که گرلین قویترین پپتید تحریک کننده ی اشتهاست هورمون گرسنگی نامیده می شود. بررسی عمل گرلین در پدیده های مختلف فیزیولوژیک بطور وسیع در حال انجام است و این تحقیقات نشان می دهد که گرلین در تعدیل عمل سیستم های مختلف بدن، مانند فرایند تغذیه و تعادل انرژی، سیکل خواب و بیداری نقش داشته و اثر آنها بر روی فعالیت سیستم اتونوم به صورت افزایش فشار خون، ضربان قلب، موتیلیتی روده و ترشح اسید معده می باشد (Arvat E, et al. (2000).

ترشح گرلین علاوه بر غدد اکسینیک معده در بافت های دیگری مثل روده، کلیه، هیپوتالاموس و غده ی هیپوفیز هم صورت می گیرد، علاوه بر مناط مذکور، غده ی پانکراس هم یک ارگان تولید کننده ی گرلین محسوب می شود، ولی نوع سلول های تولید کننده ی گرلین در جزایر پانکراسی تاکنون مشخص نشده است (Dezaki K, et al. (2004). منبع اصلی تولید گرلین در مغز گروه کوچکی از نورون های موجود در هیپوتالاموس جانبی (LH) می باشد، که با وجود تعداد محدود در سراسر سیستم اعصاب مرکزی (CNS) به ویژه در هسته های هیپوتالاموس، لوکوس سرلئوس و هسته ی پاراونتریکولار (PVN) توزیع می شوند (Cowely MA. et al. (2003).

انسولین هورمونی پروتئینی است و از سلول های بتا جزایر لانگرهانس ترشح می شود. ساختمان آن از دو زنجیره پلی پپتیدی A و B ساخته شده است که بوسیله پیوند های دیسولفور به یکدیگر متصل شده اند. انسولین به صورت پیش هورمون ساخته می شود و پس از تغییر و تحولاتی که بر روی ساختمان آن در شبکه آندوپلاسمی و دستگاه گلژی صورت می گیرد به صورت هورمون بالغ در می

آید. مقدار این هورمون به هنگام افزایش گلوکز خون به حداکثر می رسد و باعث افزایش جذب گلوکز توسط سلول ها می شود. شناسایی سلول های بیان کننده ی گرلین در پانکراس و داشتن رسپتور بر روی سلول های بتا که ترشح کننده ی انسولین هستند، نقش گرلین را به عنوان یک پپتید واسطه در کنترل عملکرد ترشحی غده ی پانکراس و تنظیم ترشح انسولین پیشنهاد می کند.

مطالعات زیادی در زمینه ی اثرات فیزیولوژیک گرلین بعنوان هورمون تنظیم کننده ی ترشح انسولین صورت گرفته است. نتایج حاصل از این مطالعات، حاکی از اثر کاهشی گرلین بر غلظت پلاسمایی انسولین در انسان، رت، خرگوش در شرایط *invitro* است، که این اثر کاهشی در سلول های β رت ها از طریق اثر کاهش ca^{+2} سیتوزولی و فعال کردن کانال های k^{+} صورت می گیرد، (Masafumi K, et al. (2008)، هم چنین اثر افزایشی تزریق درون بطنی گرلین بر ترشح انسولین دررت های بالغ (Date Y, et al. (2002) و اثر کاهشی آن در شرایط *invitro* در ایسلیت های جداشده از رتها گزارش شده است (Egido EM. et al. (2004)

آدرنوکورتیکوتروپین¹ یک هورمون پلی پپتیدی هیپوفیز پیشین است که عملکرد آن تنظیم کردن رشد و ترشح بخش کورتکس غده ی آدرنال می باشد. هورمون ACTH ریتم های سیرکا دین و کنترل فیدبکی را به نمایش می گذارد و به انواع وسیعی از تحریکات پاسخ می دهد. یک عامل آزاد کننده هیپوتالاموسی (CRH) ترشح ACTH را کنترل می کند. وجود ارتباطات سیناپسی بین پایانه های آکسونی حاوی گرلین با آکسون های حاوی هورمون آزاد کننده ی کورتیکوتروپین (CRH) در هسته ی پاراونتریکولار هیپوتالاموس و بیان رسپتورهای گرلین (GHS-R) در سلول های کورتیکوتروف مترشحه ی CRH نشان دهنده ی اثرات پاراکرینی و اتوکرینی گرلین در تنظیم ترشح هورمون های اثر گذارنده بر غده ی فوق کلیه می باشد (Jessop, DS. (1999)

¹. Adrenocorticotropin Hormone

در زمینه ی عملکرد گرلین به عنوان هورمون تنظیم کننده ی ترشح هورمون های CRH و ACTH مطالعات زیادی صورت گرفته است، نتایج حاصل از این مطالعات حاکی از اثر افزایشی تزریق گرلین بر ترشح هورمون های CRH, VIP و افزایش فعالیت محور HPA در شرایط invitro در رت ها (Mozid AM. (2003) اثر افزایشی تزریق درون بطنی گرلین بر ترشح ACTH و کورتیکوسترون و افزایش تکثیر و هایپرتروف شدن سلول های ACTH و کورتیکوتروف می باشد (Stevanovica D. et al. (2006).

شتر، حیوان نوشخوار کننده و زوج سمی است که به گروه پستانداران متعلق است. دستگاه گوارش آن دارای معده چهارگانه بوده و شامل: سیرابی، نگاری، شیردان و هزارلا می باشد، هر چند که هزارلا¹ در معده شتر توسعه چندانی نیافته به همین دلیل برخی از محققان شتر را در دسته شبه نوشخوار کنندگان طبقه بندی می کنند. هرچند اثر گرلین بر ترشح هورمون های پانکراسی و فوق کلیوی در رت ها بطور گسترده بررسی شده، اما تاکنون اطلاعات بسیار کمی در زمینه ی نقش گرلین در تنظیم متابولیسم کربوهیدراتها و ترشح انسولین و تنظیم ترشح هورمون ACTH در حیوانات نشخوار کننده ی کاذب وجود دارد. لذا ما بر اساس یک طرح آزمایشی اثرات تزریق وریدی گرلین را بر میانگین غلظت های پلاسمایی هورمون انسولین و ACTH در شترهای نابالغ یک کوهانه که در رژیم متفاوت از لحاظ سطح انرژی قرار گرفته اند مورد مطالعه قرار دادیم، که حاصل این تحقیق در این مجموعه پیش روی شماست.

¹. Omasum