بسم الله الرحمن الرحيم

۱۱۳۷۳۳

پایان نامه تحقیقاتی

کارشناسی ارشد

موضوع:

مقایسه سطوح سرمی ایزوآنزیم آلکالن فسفاتاز استخوانی و هورمون گرلین (Ghrelin) در افراد با دانسیته استخوانی سالم

استاد راهنما

آقای دکتر جواد محیطی اردکانی،دانشیار گروه بیوشیمی

اساتید مشاور

آقای دکتر محمد باقر اولیاء ،دانشیار گروه داخلی

آقای دکتر حسن مظفری خسروی،دانشیار گروه تغذیه

تهیه و تنظیم:یوسف نقیایی

دانشجوی بیوشیمی بالینی

زمستان ۸۷

۱۳۸۸ /۳/ ۳

تهیه و تدارک

۱۱۳۷۳۳

تقدیم به:

همسر و

فرزندانم علیرضا و درسا

تقدیر و تشکر از:

استاد راهنما: آقای دکتر جواد محیطی اردکانی

استاد مشاور: آقای دکتر محمد باقر اولیاء

استاد مشاور:آقای دکتر حسن مظفری خسروی

استاد ارجمند آقای دکتر جلالی

استاد ارجمند آقای دکتر مجتبی بهشتی تبار

استاد ارجمند آقای دکتر هادی

استاد ارجمند آقای دکتر سلیمانی

پرسنل محترم بخش بیوشیمی آزمایشگاه مرکزی

پرسنل محترم آزمایشگاه بیوشیمی دانشکده پیراپزشکی

پرسنل محترم آزمایشگاه تشخیص طبی و پاتوبیولوژی بوعلی

مسئول محترم مرکز پوکی استخوان میلاد سرکار خانم کشفی پور

خلاصه

مقدمه و اهداف: هورمون گرلین پلی پپتید ۲۸ اسید آمینه ای است که در طول دستگاه گوارش و عمدتا در معده ترشح می شود.اثرات متعددی از جمله افزایش اشتها و دریافت غذا ،تنظیم انرژی،افزایش ترشح هورمون رشد،افزایش برون ده قلبی،کاهش فشارخون را به این هورمون نسبت می دهند.اخیرا اثر بخشی آن بر افزایش تراکم موادمعدنی استخوان و تاثیر بر نشانگرهای استخوانی مورد توجه قرار گرفته است.از طرفی آنزیم آلکالن فسفاتاز و ایزوآنزیم استخوانی آن بعنوان بیومارکر مناسب در تغییرات استخوانی بکار میرفته است.از این رو در این مطالعه سعی شده است تا ارتباط بین هورمون گرلین با ایزوآنزیم استخوانی آلکالن فسفاتاز مورد بررسی قرار گیرد.

روش: ۳۳ فرد بزرگسال(۶۰-۲۰ سال) پس از مراجعه به مرکز سنجش تراکم استخوانی میلاد و سالم بودن وضعیت تراکم استخوان در دو ناحیه کمر و فمور با روش(**DXA**)dualenergy x-ray absorptiometry انتخاب و پس از تکمیل پرسشنامه نمونه خون از آنها گرفته شد . سرم از خون جدا شده و جهت اندازه گیری آلکالن فسفاتاز و گرلین درون دو لوله پلاستیکی مجزا ریخته شده و بلافاصله به فریزر انتقال داده شد و در دمای ۷۰- نگهداری شدند.لوله مربوط به اندازه گیری گرلین حاوی یک ماده آنتی پروتئاز (پارا هیدروکسی مرکوری بنزوئیک اسید)به منظور جلوگیری از تجزیه گرلین سرم توسط پروتئازهای موجود در آن و ماده ضد انعقاد**EDTA** (اتیلن دی آمین ترا اتیل استات) بود.

گرلین سرم با استفاده از روش **ELISA** توسط کیت اندازه گیری شد.به منظور اندازه گیری میزان ایزو آنزیم استخوانی آلکالن فسفاتاز از روش ژل الکترو فورز پلی آکریل آمید و غیر فعال سازی با حرارت (heat inactivation) استفاده شد.

نتایج: میانگین سنی افراد۱۰/٦ ±٤۰ سال و نمایه توده بدنی۳/٦ ±۲۷ (کیلوگرم بر متر مربع)بود.همچنین میانگین غلظت گرلین پلاسما و آنزیم آلکالن فسفاتاز به ترتیب ۱۲۸/۹ ±۱۰۰/۵ (pg/ml) و ٤۳/۱ ±۱۳۵/۵ (Iu/L) بدست آمد.تفاوت معنی داری بین گرلین و آلکالن فسفاتاز تام و ایزوآنزیم استخوانی آن برحسب جنس مشاهده نشد(به ترتیب p= ۰/۸۷ ، p= ۰/٤۵ ،p= ۰/۷۱). گرلین ارتباط معنی داری را در دوگروه از نمایه توده بدنی سالم و اضافه وزن و چاق نشان داد(p= ۰/۰۲).ضریب همبستگی گرلین با هیچکدام از متغیرها بخصوص تراکم استخوانی ناحیه کمر و فمور و ایزوآنزیم استخوانی آلکالن فسفاتاز معنی دار نبود و تنها با وزن افراد معنی دار بود(p= ۰/۰۵ و r=۰/۳۳).

نتیجه گیری: در این مطالعه ارتباط معنی داری بین گرلین و ایزوآنزیم استخوانی آلکالن فسفاتاز و تراکم استخوانی دو ناحیه کمر و فمور دیده نشد که با برخی از مطالعات مشابه همخوانی دارد.هر چند که برخی مطالعات که بر روی استئوبلاست ها انجام شده بود این ارتباط را تایید کرده بود که بخاطر تفاوت در طراحی مطالعه است.مطالعات بیشتر در این خصوص با افراد مورد بررسی بیشتر و افراد با مشکلات استخوانی ضروری بنظر می رسد.

فهرست مطالب

فصل اول: کلیات

۱-۱تاریخچه..... ۲

۱-۲ نامگذاری..... ۳

۱-۳ساختمان گرلین..... ۳

۱-٤سنتز و ترشح گرلین..... ٦

۱-٥تنظیم ترشح گرلین..... ۷

۱-٦گیرنده های گرلین..... ۹

۱-۷نحوه اثر گرلین و ترشح آن..... ۱۰

۱-۸اثرات فیزیولوژیک گرلین..... ۱۱

۱-۸-۱اثر بر آزاد شدن هورمون رشد(GH) ۱۱

۱-۸-۲تنظیم اشتها..... ۱۳

۱-۲-۸-۱دریافت غذا..... ۱۳

۱-۲-۸-۲گرلین و وعدههای غذایی ۱۵

۱-۲-۸-۳گرلین و اورکسین(orexin)..... ۱٦

۱-۲-۸-٤بیان ژن گرلین و اشتها..... ۱٦

۱-۲-۸-٥بای پس معدی..... ۱٦

۱-۸-۳چاقی و مشکلات وزنی..... ۱۷

۱-۸-٤پلی مورفیسم در ژن های گرلین و چاقی..... ۱۸

۱-۸-٥اثرات کاردیو واسکولار..... ۱۸

٦-٨-١اثر بر حافظه و رفتار..... ١٩
٧-٨-١اختلالات در غذا خوردن..... ١٩
٨-٨-١اثر بر استخوان..... ٢٠
٩-٨-١اثر بر پرولیفراسیون در سرطان..... ٢٢
١٠-٨-١گرلین و ترشح انسولین..... ٢٢
١١-٨-١اعمال معدی-روده ای..... ٢٣
٩-١روشهای اندازه گیری گرلین..... ٢٤
١-٩-١سنجش ایمونومتریک آنزیمی(EIA)..... ٢٤
٢-٩-١سنجش کمپلکس آنتی ژن -آنتی بادی متصل به آنزیم(ELISA) ٢٤
٣-٩-١روش رادیوایمونواسی (RIA) ٢٥
٤-٩-١ روش کروماتوگرافی مایع با کارآیی بالا فاز معکوس(RP-HPLC) ٢٦
٥-٩-١ روش وسترن بلاتینگ(western blotting)..... ٢٦
١٠-١آنزیم آلکالن فسفاتاز(ALP) ٢٧
١١-١جداسازی ایزوفرم های آلکالن فسفاتاز(ALP) ٢٩
١-١١-١ جداسازی با روش الکتروفورتیک..... ٢٩
٢-١١-١آنالیز غیر فعال سازی حرارتی..... ٣٢
٣-١١-١مهار توسط اوره..... ٣٣
٤-١١-١مهار شیمیایی..... ٣٣
٥-١١-١تکنیک های ایمونولوژیکی..... ٣٣
١٢-١بیان مسئله و اهمیت موضوع..... ٣٤
١٣-١مروری برمطالعات..... ٣٥

۱٤-۱اهداف و فرضیات..... ۳۹

فصل دوم :مواد و روشها

۱-۲نوع و روش مطالعه..... ٤۲
۱-۱-۲جامعه مورد بررسی..... ٤۲
۲-۱-۲روش نمونه گیری وتعیین حجم نمونه ٤۲
۳-۱-۲متغیرها ٤۲
٤-۱-۲روش اجرای طرح..... ٤۳
۲-۲ اندازه گیری تراکم استخوان..... ٤٤
۳-۲روش تهیه نمونه خون و نحوه نگهداری آن..... ٤٦
۱-۳-۲ نحوه نمونه گیری..... ٤٦
۲-۳-۲ تهیه محلولهای مورد نیاز جهت نمونه گیری گرلین..... ٤۷
٤-۲ آنالیزهای بیوشیمیایی..... ٤۸
۱-٤-۲ اندازه گیری گرلین به روش ELISA..... ٤۸
۲-٤-۲ اندازه گیری ایزوآنزیم های آلکالن فسفاتاز..... ۵۲
۳-٤-۲ اصول اندازه گیری با روش الکتروفورز روی ژل پلی اکریل آمید(PAGE)..... ۵۲
٤-٤-۲روش کار در ژل الکتروفورز..... ۵۵
۵-٤-۲مراحل تهیه ژل الکتروفورز پیوسته..... ۵۸
٦-٤-۲تعیین میزان آلکالن فسفاتاز های توتال و استخوانی ٦۱

۷-٤-۲روش غیر فعال سازی حرارتی ٦٣

۵-۲آنالیزهای آماری..... ٦٥

٦-۲محدودیت های طرح..... ٦٦

فصل سوم :نتایج

۱-۳ نتایج میانگین پارامترهای اندازه گیری شده و ارتباط با هم

۱-۱-۳ میانگین و انحراف معیار متغیر ها ی زمینه ای کمی..... ٦٨

۲-۱-۳ میانگین و انحراف معیار غلظت هورمون گرلین،آلکالن فسفاتاز تام و استخوانی ٦٩

۳-۱-۳ میانگین و انحراف معیار میزان تراکم استخوان ناحیه کمر(SBML) ، فمور(SBMD) و میزان T-Score آنها..... ۷۰

٤-۱-۳ مقایسه میانگین غلظت هورمون گرلین ،آلکالن فسفاتاز تام و آلکالن فسفاتاز استخوانی بر حسب جنس..... ۷۱

۵-۱-۳مقایسه میانگین تراکم استخوانی ناحیه کمر ، فمور و T-Score این دو ناحیه بر حسب جنس..... ۷۲

٦-۱-۳ مقایسه میانگین غلظت هورمون گرلین ،آلکالن فسفاتاز کل و آلکالن فسفاتاز استخوانی بر حسب نمایه توده بدن(BMI)..... ۷۳

۷-۱-۳ مقایسه میانگین تراکم استخوانی ناحیه کمر ، فمور و T-Score این دو ناحیه بر حسب نمایه توده بدن(BMI)..... ۷٤

۸-۱-۳ضریب همبستگی هورمون گرلین با متغیرهای مختلف ۷۵

۹-۱-۳ضریب همبستگی تراکم استخوانی ناحیه کمر(SBML) و T-score با متغیرهای مختلف..... ۷٦

۱۰-۱-۳ضریب همبستگی تراکم استخوانی ناحیه فمور(SBMD) و T-score با متغیرهای مختلف..... ۷۷

۱۱-۱-۳ ضریب همبستگی آلکالن فسفاتاز تام و ایزوآنزیم استخوانی آن با متغیرهای مختلف..... ۷۸

۲-۳ مقایسه اندازه گیری ایزوآنزیم های آلکالن فسفاتاز با دو روش غیر فعال سازی حرارتی(heat inactivation) و ژل الکتروفورز همراه با نورآمینیداز

۱-۲-۳ میانگین ایزوآنزیم های آلکالن فسفاتاز(کبدی) با دو روش غیر فعال سازی حرارتی و الکتروفورز..... ۷۹

فصل چهارم: بحث و نتیجه گیری

۱-٤ بحث و نتیجه گیری..... ۸۲

۲-٤ پیشنهادات..... ۸۷

جداول

جدول شماره ۱-۳ -میانگین و انحراف معیار متغیرهای زمینه ای کمی..... ٦۸

جدول شماره ۲-۳ میانگین و انحراف معیار غلظت هورمون گرلین،آلکالن فسفاتاز تام و استخوانی..... ٦۹

جدول شماره ۳-۳ میانگین و انحراف معیار میزان تراکم استخوان ناحیه کمر(SBML) ،فمور(SBMD) و میزان T-Score آنها..... ۷۰

جدول شماره ٤-۳مقایسه میانگین غلظت هورمون گرلین ،آلکالن فسفاتاز تام و آلکالن فسفاتاز استخوانی بر حسب جنس ۷۱

جدول شماره ٥-۳مقایسه میانگین تراکم استخوانی ناحیه کمر، فمور و T-Score این دو ناحیه حسب جنس..... ۷۲

جدول شماره ٦-۳ مقایسه میانگین غلظت هورمون گرلین ،آلکالن فسفاتاز تام و آلکالن فسفاتاز استخوانی بر حسبBMI ۷۳

جدول شماره۷-۳ مقایسه میانگین تراکم استخوانی ناحیه کمر ، فمور و T-Scoreاین دوناحیه بر حسبBMI..... ۷٤

جدول ۸-۳ ضریب همبستگی هورمون گرلین در پلاسمای افراد تحت مطالعه با متغییرهای مختلف ۷٥

جدول شماره۹-۳ضریب همبستگی تراکم استخوانی ناحیه کمر(SBML) و T-score با متغیرهای مختلف..... ۷٦

جدول شماره۱۰-۳ ضریب همبستگی تراکم استخوانی ناحیه فمور(SBMD) و T-score با متغیرهای مختلف..... ۷۷

جدول ۱۱-۳ضریب همبستگی آلکالن فسفاتاز تام و ایزوآنزیم استخوانی آن با متغیرهای مختلف..... ۷۸

جدول شماره ۱۲-۳ میانگین ایزوآنزیم های آلکالن فسفاتاز(کبدی) با دو روش غیر فعال سازی حرارتی و الکتروفورز..... ۸۰

فصل اول: کلیات

۱-۱تاریخچه

۱-۲ نامگذاری

۱-۳ساختمان گرلین

۱-۴سنتز و ترشح گرلین

۱-۵تنظیم ترشح گرلین

۱-۶گیرنده های گرلین

۱-۷نحوه اثر گرلین و ترشح آن

۱-۸اثرات فیزیولوژیک گرلین

۱-۹روشهای اندازه گیری گرلین

۱-۱۰آنزیم آلکالن فسفاتاز(ALP)

۱-۱۱جداسازی ایزوفرم های آلکالن فسفاتاز(ALP)

۱-۱۲بیان مسئله و اهمیت موضوع

۱-۱۳مروری برمطالعات مشابه

۱-۱۴اهداف و فرضیات

مقدمه

گرلین هورمون پپتیدی ۲۸ اسیدآمینه ای است که عمدتا در دستگاه گوارش(فوندوس معده) سنتز می شود(۱و۲) .نقش و وظایف متعددی از جمله شرکت در تنظیم انرژی ، متابولیسم و توده چربی را به این هورمون نسبت میدهند . امروزه نقش این هورمون در توده استخوانی مورد توجه قرار گرفته است. بطوری که وجود گیرنده های آن در سلولهای استئوبلاست به اثبات رسیده است.مطالعات متعددی رابطه این هورمون و دانسیته استخوانی (BMD) را مورد بررسی قرار داده است(۳ ،۴و۵) .

از طرفی آنزیم آلکالن فسفاتاز از آنزیم های سرمی است که ممکن است منشا استخوانی،کبدی،جفتی و یا روده ای داشته باشد در نتیجه دارای فرم های ایزوآنزیمی متفاوت در خون است. ایزوآنزیم استخوانی آلکالن فسفاتاز همواره بعنوان یک نشانگر ساخت و ساز استخوان مورد توجه بوده است و اندازه گیری آن معرف خوبی جهت پی بردن به وضعیت متابولیکی استخوان ها می باشد(۶ و۷) .لذا در این مطالعه قصد داریم ارتباط هورمون گرلین با ایزوآنزیم استخوانی آلکالن فسفاتاز را در افراد با دانسیته استخوانی سالم مورد بررسی قرار دهیم .

۱-۱هورمون گرلین

تاریخچه

در دهه ۱۹۷۰ترکیبات پپتیدی و غیر پپتیدی که به نوعی هورمون رشد (GH)را تحریک یا اثر آنرا تقویت می کردند کشف شدند.این مواد بطور مستقل از هورمونهای آزاد کننده هورمون رشد(GHRH) عمل می کردند و با نام کلی تحریک کننده های هورمون رشد (growth hormone secretagogues) شناخته شدند.کشف بعدی در خصوص گیرنده طبیعی برای این دسته از مواد بودبا نام کلی growth hormone secretagogues-receptor (GHS_R)

که در سال ۱۹۹۶ انجام شد.سه سال بعد یک لیگاند طبیعی برای GHS_R شناخته شد که ابتدا از عصاره معده موش شناسایی و تخلیص شده بود و گرلین نام گرفت.بعدها نقش های مختلفی از جمله تاثیر بر دریافت غذا ،عملکرد مجرای گوارشی و سیستم قلبی-عروقی،الگوی خواب و پیشگیری از برخی سرطانها برای گرلین مشخص شد (۲).

۲-۱نامگذاری

گرلین از پیشوند ghre تشکیل شده که به معنای رشد(grow) است و علت این نامگذاری بخاطر توانایی اش در تحریک ترشح هورمون رشد بوده است(۸) .همچنین بعلت اثراتی که بر دریافت غذا و گرسنگی دارد به آن هورمون گرسنگی (hunger hormone)نیز اطلاق می شود(۹).

۳-۱ساختمان گرلین

گرلین پپتیدی متشکل از ۲۷ یا ۲۸ اسید آمینه است . توالی های آنها بطور زیادی در گونه های مختلف محفوظ مانده است.نوع ۲۷ اسید آمینه ای آن از پیش ساز ۱۱۶ اسید آمینه ایی است که از اسید آمینه شماره ۲۴ تا ۵۰ را شامل می شود و بقیه، پپتید وابسته به موتیلین motilin related peptide(MTLRP) گفته می شود. در موشها و رت گرلین ۲۷ اسید آمینه ای است. (۱۰)

نوع ۲۸ اسید آمینه ای از پیش ساز ۱۱۷ اسید آمینه ایی بصورت پری پرو هورمون سنتز می شود.باقیمانده ۱ تا ۲۳ آن حاوی یک سیگنال پپتید می باشد و در واقع از ۲۴ تا ۵۱ گرلین را تشکیل می دهد.بقیه آن یعنی اسید آمینه ۵۲ تا ۱۱۷ همان پپتید همراه موتیلین است.در انسان گرلین ۲۸ اسید آمینه ایی است. (۸)

هر دو نوع گرلین در سلولهای معده سنتز می شوند واین میزان در طول مجرای گوارش کاهش می یابد.مقدار کمی نیز در بیضه ها سنتز می شود. تحقیقات نشان داده است که قسمت N ترمینال

۵-۴ اسید آمینه باقیمانده آن بعنوان قسمت فعال ملکول است.فعالیت گرلین بوسیله آسیلاسیون با اسید اکتانوئیک در سرین شماره ۳ بروز می کند که به آن گرلین آسیله می گویند(۲ ،۸ و ۱۰).

n-اکتانوئیل شدن بر روی سرین ۳ تنها اصلاح برای فعالیت گرلین نیست بلکه پردازش های دیگری نیز بر روی آن انجام می گیرد.بر اساس آسیلاسیون روی سرین ،گرلین انسانی را به چهار دسته تقسیم می کنند:

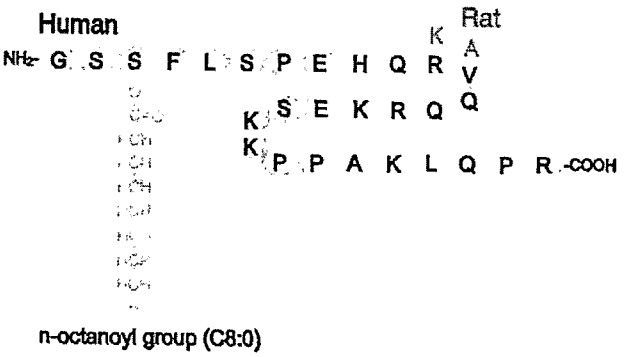
- غیر آسیله (nonacylated)

- اکتانوئیل شده(octanoeilated)

- دکانوئیل شده(decanoeilated)

- دی سنوئیل شده (decenoeilated)

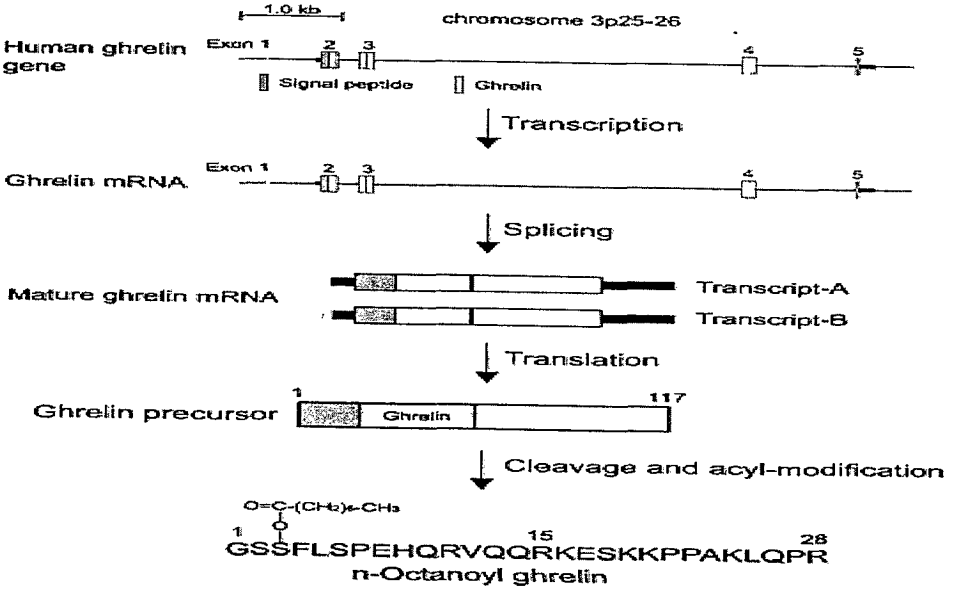
فرم اصلی و فعال گرلین انسانی پپتید ۲۸ اسید آمینه ای اکتانوئیل شده در سرین ۳ می باشد.آسیلاسیون سرین ۳ موجب می شود گرلین از سد مغزی-خونی عبور کند که این امر یک عمل ضروری جهت باند شدن با گیرنده اش در مغز است. (۲و۸)



شکل ۱-۱ ساختمان گرلین انسان و موش(۱)

گرلین انسان ۲۸ اسید آمینه وگرلین موش ۲۷ اسید آمینه ای است تفاوت در اسید آمینه های شماره ۱۱ و۱۲ مشخص شده است.اسید آمینه شماره ۱۴ در موش وجود ندارد.در هر دو گرلین در سرین شماره ۳ اسید چرب بصورت اسید n-اکتانوئیک دیده می شود.این اصلاح برای فعالیت گرلین ضروری است.

عبور گرلین انسانی از سد خونی به مغز و مغز به خون بوسیله سیستم های اشباع پذیر انجام می شود و فرایند دو جهته تنظیمی دارد.این فرایند تحت تاثیر حداقل ۲ جنبه از ساختمان اولیه گرلین قرار می گیرد:توالی اسید آمینه و زنجیره جانبی که بعدا اضافه می شود(مشتق اسید چرب).اگر چه n-اکتانوئیل شدن در سرین برای فعالیت گرلین ضروری بنظر می رسد اما مشخص شده است که فرم غیرآسیله نیز بعضی فعالیت های بیولوژیکی را از خود نشان می دهد.گرلین غیر آسیله در گردش خون در مقادیر زیادتر می تواند اثرات قلبی-عروقی و اثرات پیشگیری کننده از تکثیر سلولی در سرطانها را از خود نشان دهد(۱و۲)



شکل ۲-۱ از ژن گرلین انسانی تا یک پپتید فعال(۱)

ژن گرلین انسانی متشکل از ۵ آکسون است .اولین آکسون منطقه ´۵ ترجمه نشده را کد می کند و بسیار کوتاه است.آنالیز cDNA در گرلین انسانی مشخص کرد که رو نویسی A ،فرم اصلی mRNA گرلین انسانی است.mRNA به پیش ساز ۱۱۷ اسید آمینه ای گرلین(پری پروگرلین)ترجمه می شود.برش توسط پروتئاز و اصلاح آسیلی پیش ساز گرلین منجر به تولید گرلین ۲۸ اسیدآمینه ای می شود.

۴-۱سنتز و ترشح گرلین

گـرلین عمـدتا در معـده بوسـیله سـلولهای غـده ای(oxyntic) مولـد اسـید موکـوس در قـسمت فوندوس بیان می شود. از طرفی مقدار کمتر و جزئی از آن در روده،بیضه،هیپوفیز و سـایر بافتهـای دیگر تولید می شود.در معده گرلین بوسیله سـلولهای X/Alike سـنتز مـی شـود.ایـن سـلولها Gr نامیده می شوند و حدود ۲۰ ٪ جمعیت سلولی اندوکرینی را در غدد oxyntic انسانی تشکیل مـی دهند.این سلولها نزدیـک بـه شـبکه مـویرگی لامینـای معـده قـرار دارنـد و ایـن موضـوع عملکـرد اندوکرینی شان را تسهیل می کند. اخیرا دو نوع سلول Gr توضیح داده می شوند:باز و بسته.

سلولهای نوع باز بتدریج از معده به مجرای گوارشی پایین تر افزایش می یابند.

گرلین در پانکراس نیز بیان می شود.گرلین در سلولهای بتا یافت شـده در حالیکـه برخـی محققـین محل آنرا مجزا از گلوکاگون در سلولهای آلفا می دانند.مطالعات اخیر حضور دسته ای از سلولهای تولید کننده گرلین را در پانکراس مشخص کردند که هیچ هورمون شـناخته شـده ای را بیـان نمـی کند.

سلولهای گرلین ساز دردوران جنینی در پانکراس فراوانند و در جزایر لانگرهانس پراکنـده شـده و در حاشیه قرار گرفته اند در حالیکه در بزرگسالان زیـاد نیـستند و در بافـت اگزوکـرین مجـاری و گانگلیای پانکراسی قرار گرفتند(۲ و ۱۱).

مقدار گرلین با استفاده ازروش رادیوایمونواسـی(RIA) بـرای نـواحی CوN ترمینـال گـرلین در مجرای روده ای-معدی مشخص می کند که گرلین در طول دستگاه گوارش وجود داشته و میزان آن در معده بیش از روده بزرگ و کولون است(۱۱).

۵-۱تنظیم ترشح گرلین

هورمونهای متعددی در ترشح و یا مهار آن نقش دارند.هورمون رشد (GH) که خود در اثر عمل گرلین ترشح می شود می تواند از طریق مهار فیدبکی معدی-هیپوفیزی ترشح گرلین را تنظیم کند.در حقیقت ثابت شده که GH بیان گرلین را در معده مهار می کند .همچنین سطح گرلین در گردش خون در رت ها نیز با تجویز GH کاهش می یابد.در انسان نیز افزایش ترشح GH با کاهش غلظت گرلین در خون همراه است. (۲،۱۲)

سوماتواستاتین نه تنها ترشح گرلین القا شده باGH را متوقف می کند بلکه سطح پلاسمایی گرلین را نیز مستقل از غلظت GH پلاسماکاهش می دهد .همچنین وضعیت تیروئید ممکن است سطح سرمی گرلین را تحت تاثیر قرار دهد.مطالعات نشان می دهد که برداشتن تیروئید موجب متوقف شدن بعضی ازاثرات گرلین (مثل افزایش دریافت غذا و افزایش وزن) می شود.هورمون لپتین نیز بعنوان محرکی برای کاهش تولید و ترشح گرلین عمل می کند.همچنین اثرات گرلین بر اشتها را نیز متوقف می کند . این اثر لپتین بر منع دوگانه گرلین(مهار ترشح گرلین معدی و مهار اثر گرلین بر غذاخوردن)بازوی تنظیمی اصلی بین محیط و هیپوتالاموس در جهت هموستاز وزن است.(۲،۱و۱۲)

فرض می شود که گرلین آزاد می تواند با سطح گلوکز سرم کنترل شود.مطالعات نشان می دهد که هیپوگلیسمی می تواند ترشح گرلین را تحریک کند.برعکس اثر فوری و توقفی یک وعده غذایی روی ترشح گرلین دیده شده است.در برخی از مدلهای آزمایشگاهی ثابت شده است که هیپرگلیسمی با کاهش در گرلین پلاسما همراه است. از طرفی برخی ها عقیده دارند که هیچ تغییری در غلظت گرلین پلاسما بعد از تجویز گلوکز وریدی در انسان دیده نشد.بنابراین اثر مستقیم گلوکز بر ترشح گرلین بطور کامل به اثبات نرسیده است.

انسولین ممکن است موجب مهار شدن در ترشح گرلین مستقل از غلظت گلوکز سرم شود.این فرضیه در راستای مشاهداتی است که در برخی شرایط پاتولوژیکی همراه با هیپر انسولینمی مثل سندرم تخمدان پلی سیستیک و آکرومگالی پیش می آید که غلظت گرلین پلاسما بطور مشخص پایین می آید(۱۳،۱۴).

جدول شماره ۱-۱تنظیم تولید یا ترشح گرلین

فاکتور یا وضعیت	تولید یا ترشح گرلین×
هورمون رشد	⇩
سوماتواستاتین	⇩
لپتین	⇩
انسولین	⇩
هیپوگلیسمی	⇧
هیپر گلیسمی	⇩
هیپوتیروئیدیسم	⇧
هیپرتیروئیدیسم	⇩

*⇧افزایش ⇩ کاهش

الگوی خواب می تواند بر میزان ترشح و اثر گرلین بر دریافت غذا موثر باشد بطوری که محرومیت از خواب می تواند افزایش ترشح گرلین(خصوصا در ۲۴ ساعت اول)شده و افزایش دریافت غذاها بخصوص غذاهای پرکالری را در پی داشته باشد.فرض بر این است که خواب کمتر موجب افزایش فعالیت عصب واگ شده و منجر به افزایش علائم بین گوارش و مغز می شود(۹و ۱۵).

۶-۱گیرنده های گرلین

گیرنده های مواد مترشحه هورمون رشد GHSs(Growth Hormone Secretagogues) عضو گیرنده های جفت شده با Gپروتئین بوده و بوسیله ژن منفرد و شدیدا فشرده GHS_R مشخص می شوند.دو نوع GHS_Rوجوّد دارد: نوع Ia که عملکردی است و نوع Ibکه غیر عملکردی است.هر دونوع احتمالا با یک ژن کد شده ولی در پردازش متفاوت می شوند.طول کامل ژن Ia انسانی یک پلی پپتید ۳۶۶ اسیدآمینه ای را کد می کند در حالیکه ژن Ib حاوی۲۸۹ اسیدآمینه است که از قسمت سر آن تعداد ۷۷ اسید آمینه جدا شده است.نوع Iaو Ib به ترتیب ۷ و ۵ دومین بین غشایی دارند.نوعIa حاوی ۳ و نوع Ib حاوی ۲ لوپ داخل و خارج غشایی هستند.گیرنده جفت شده با G پروتئین (GPC_R) توالی سه تایی دارند.اثر گرلین بر گیرنده GHS_RIa موجب فعال شدن آن و افزایش کلسیم داخل سلولی شده و تولید اینوزیتول تری فسفات (IP3) را موجب می شود.(۱، ۲ و ۸)

گیرنده های گرلین توسط نرونهای هسته قوسی و قسمت مرکزی هیپوتالاموس بیان می شود و جالب اینکه محل کروموزومی آن نزدیک به نقشه موجود در سندرمBrachmann-de-lange است(این سندرم با عقب افتادگی در رشد قبل و بعد از تولد،انورمالی احشایی و دست و پا،میکروبراکی سفالی،هیرسوتیسم و صورت غیر طبیعی مشخص می شود).هر چند که مدرکی در دست نیست که تغییرات ژن GHS_R موجب سندرم نامبرده شود.

گیرنده های نوع Ia عمدتا در هیپوفیز بیان می شوند .همچنین در غده تیروئید،پانکراس،طحال،مایکوکاردیوم و غده آدرنال به میزان کمتر سنتز می شوند.نوع Ibتوزیع گسترده ای در بافت های مختلف مثل معده،مری،روده،کبد،شش،عضله و بیضه دارد(۲و۳).