ORIGINAL ARTICLE

Effect of Food Restriction and Weight loss on Ghrelin, Ghrelin Receptor, Aromatase and StAR Gene Expression in Female Rat Ovary

Masoumeh Motamedi Joibari[1],
Homayoun Khazali[2]

[1] Ph.D. Student in Animal Physiology, Faculty of Bioscience, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran
[2] Professor, Department of Animal Biology, Faculty of Bioscience, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran

(Received February 10, 2014 ; Accepted November 6, 2014)

Abstract

Background and purpose: Ghrelin secreted mainly by stomach in food restriction. This neuropeptide is also expressed in ovary. Although effect of weight loss on reproductive system is obvious but the mechanism of this effect is not fully understood. The aim of this study was investigating the effect of minus energy balance on ghrelin, ghrelin receptor, aromatase, and StAR gene expression in different estrus cycle in female rat ovary.

Materials and methods: In this study 48 intake female wistar rats (250-300g) were divided into two groups. In group 1, rats were 50% food restricted for 10 days. Rats in group 2 were remained intact. In study day, the rats in each group were divided based on their estrous phase (proestrous, estrous, diestrous1 and diestrous2) by vaginal smear test. Rats were anesthetized and their ovaries were isolated. Ghrelin, ghrelin receptor, aromatase and StAR gene expression was assayed by Quantitative Real Time PCR.

Results: Quantitative real-time PCR showed that ghrelin and ghrelin receptor mRNA expression in food restricted rats were significantly lower than that of the normal rats but aromatase and StAR mRNA significantly increased in group 1.

Conclusion: Our findings indicate that weight loss can have different and independent effect on ovarian ghrelin gene expression.

Keywords: Ghrelin, ghrelin receptor, aromatase, StAR, ovary

J Mazandaran Univ Med Sci 2014; 24(118): 90-98 (Persian).

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره بیست و چهارم شماره ۱۱۸ آبان سال ۱۳۹۳ (۹۸-۹۰)

اثر رژیم غذایی و کاهش وزن بر بیان سیکلیک ژن گرلین، رسپتور گرلین، آروماتاز و StAR در تخمدان موش های صحرایی

معصومه معتمدی جویباری[۱]
همایون خزعلی[۲]

چکیده

سابقه و هدف: گرلین به طور عمده از معده، در زمان گرسنگی ترشح می‌شود. این نوروپپتید در تخمدان نیز وجود دارد. با این‌که اثر کاهش وزن و محدودیت غذایی بر سیستم تولید مثلی اثبات شده است اما مکانیسم دخیل در این فرایند کاملا مشخص نیست. بنابراین هدف از این آزمایش بررسی اثر بالانس انرژی منفی بر بیان گرلین، رسپتور گرلین و ژن‌های درگیر در استروئیدوژنز تخمدان در فازهای مختلف جنسی می‌باشد.

مواد و روش‌ها: ۴۸ عدد موش صحرایی ماده باکره نژاد ویستار (۲۵۰-۳۰۰ گرم) به دوگروه تقسیم شدند. در یک گروه، رت‌ها تحت محدودیت غذایی ۵۰ درصد به مدت ۱۰ روز قرار گرفتند. رت‌های گروه دوم در این مدت دسترسی آزادانه به غذا داشتند. در روز آزمایش، حیوانات هر گروه بر اساس فاز استروس خود توسط تست واژینال اسمیر به چهار گروه (پرواستروس، استروس، دی استروس ۱ و دی استروس۲) تقسیم شدند. سپس موش‌های صحرایی بیهوش شده و تخمدان آن‌ها خارج شد. میزان بیان گرلین و رسپتور گرلین، آروماتاز و StAR توسط روش real-time PCR اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: نتایج حاصل نشان داد که بیان mRNA گرلین و رسپتور گرلین در موش‌های صحرایی که در محدودیت غذایی ۵۰ درصد قرار داشتند به‌طور معنی‌داری از رت‌های نرمال پایین‌تر است در حالی‌که بیان mRNAآروماتاز و StAR در برخی فازها نسبت به موش‌های صحرایی نرمال بالاتر است.

استنتاج: نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که کاهش وزن می‌تواند اثری متفاوت و مستقل بر بیان گرلین تخمدان داشته باشد.

واژه های کلیدی: گرلین، رسپتور گرلین،آروماتاز، StAR، تخمدان

مقدمه

گرلین یک پپتید ۲۸ اسید آمینه‌ای است‌که به‌طور ویژه توسط سلول‌های اندوکرین معده ترشح می‌شود(۲،۱). نقش عمده این هورمون در گرسنگی، زمان وعده‌های غذایی و تنظیم دراز مدت وزن بدن می‌باشد(۳،۴). GHSR یک رسپتور کوپل شده با G پروتئین است. بیان mRNA مرکزی رسپتور گرلین در هیپوتالاموس و غده هیپوفیز اثبات شده است(۵).

مطالعات انجام شده در زمینه نقش مرکزی گرلین

مولف مسئول: همایون خزعلی – تهران: دانشگاه شهید بهشتی تهران، دانشکده علوم زیستی E-mail: hkhazali@hotmail.com
۱. دانشجوی دکتری فیزیولوژی جانوری، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه شهید بهشتی تهران، تهران، ایران
۲. استاد، گروه جانوری، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه شهید بهشتی تهران، تهران، ایران
تاریخ دریافت : ۱۳۹۲/۱۱/۲۱ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : ۱۳۹۳/۲/۱۰ تاریخ تصویب : ۱۳۹۳/۸/۱۵

حاکی از اثر کاهشی آن بر ترشح Luteinizing (LH) hormone و follicle stimulating hormone (FSH) و در نتیجه بیانگرنقش مهاری آن در سیستم تولیدمثلی است(۶). ازسوی دیگر مطالعات انجام شده در رابطه با اثر گرلین بر استروئیدوژنز به صورت موضعی نتایج متفاوتی را نشان داده است، به‌طوری‌که در برخی مطالعات اثر گرلین روی بیان و ترشح پروژسترون در بافت تخمدان تحریکی(۶) و در برخی دیگر مهاری گزارش شده است(۸،۷).

البته نقش گرلین در رابطه با بیماری‌های مربوط به تولید مثل تنها به بررسی گرلین پلاسما محدود شده و مطالعه‌ای در رابطه با بررسی بیان گرلین موجود در تخمدان در رابطه با بیماری‌های مختلف تولیدمثلی صورت نگرفته است. مطالعات نشان داده که در زنان مبتلا به سندرم تخمدان پلی کیستیک میزان گرلین پایه پلاسما کم‌تر از زنان نرمال است(۹). همچنین رابطه معکوس و معنی‌داری بین میزان پرمویی (هیرسوتیسم) که یکی از علائم هایپرآندروژمیا است و غلظت گرلین پلاسما وجود دارد(۱۰).

از طرف دیگر، همان‌طورکه قبلا اشاره شد گرلین در تخمدان نیز بیان می‌شود(۱۱)، به‌طوری‌که حضور گرلین و رسپتور عملکردی آن در تخمدان انسان به واسطه روش ایمونوهیستوکمیستری با آنتی‌بادی پلی‌کلونال اثبات شده است(۱۲). بیش‌ترین میزان گرلین در سلول‌های اینترستیشیال ناف تخمدانی است. همچنین گرلین ایمونوراکتیو در کورپوس لوتئوم جوان و بالغ دیده می‌شود. درحالی‌که بیان پپتید در بافت لوتئال در حال تخریب متوقف می‌شود. بیان پروتئین GHS-R 1a تخمدانی یک طرح وسیع‌تری از انتشار بافتی را نشان می‌دهد به‌طوری‌که در اووسیت، سلول‌های فولیکولار سوماتیکی، سلول‌های لوتئال جوان، بالغ، پیر و کورپوس لوتئوم در حال تخریب و سلول‌های اینترستیشیال ناف تخمدان وجود دارد. پپتید GHS-R 1a فولیکولی به طور موازی با تکامل فولیکولی در سلول‌های گرانولوزا و لایه تکای فولیکول های سالم آنترال بیان می‌شود.

حضور لیگاند و رسپتور گرلین در تخمدان انسان این احتمال را به وجود می‌آورد که این مولکول می‌تواند نقش تنظیمی در عملکرد فیزیولوژیکی و پاتوفیزیولوژیکی تخمدان داشته باشد(۱۳). با وجود بیان مداوم گرلین در همه مراحل، سطوح mRNA گرلین به‌طور قابل توجه‌ای وابسته به فازهای مختلف سیکلی است، به‌طوری‌که کم‌ترین سطح بیان را در مرحله پرواستروس و بالاترین حد را در مرحله دی استروس (روز ۱) دارد. در حقیقت بیانگر یک طرح سیکلیک ازبیان است(۱۴).

استروئیدوژنز درفولیکول تخمدان از پیش‌ساز کلسترول انجام می‌شود. به‌طوری‌که تولید پیش ماده آندروژن در سلول‌های تکا تحت تاثیر LH انجام می‌شود و سپس توسط FSH در سلول‌های گرانولوزا عمل آروماتیزیشن و تبدیل آندروژن به استروژن توسط آنزیم آروماتاز انجام می‌شود. یکی از مراحل مهم در فرایند استروئیدوژنز انتقال پیش ماده کلسترول به غشای داخلی میتوکندری سلول تکا است که ژن Star در آن دخیل است(۱۵).

از آن‌جایی که مطالعات قبلی نشان دادند که گرلین موجود در تخمدان طرح بیان متفاوتی از کل گرلین موجود در پلاسمای خون دارد(۱۴) و از طرف دیگر می‌تواند اثرات پاراکرینی بر سلول‌های درگیر در استروئیدوژنز داشته باشد(۶)، هدف از مطالعه حاضر پاسخ به این سوال است‌که آیا طرح بیان گرلین موجود درتخمدان در مواجهه بامحدودیت غذایی تغییر می‌کند و این تغییر احتمالی تا چه حد همسو با تغییر در طرح بیان ژن‌های درگیر در استروئیدوژنز در تخمدان موش‌های صحرایی است.

مواد و روش‌ها

۴۸ عدد موش صحرایی ماده باکره نژاد ویستار (دو گروه و ۴ زیر گروه، در هر گروه ۶ موش) با وزن ۲۵۰ تا ۳۰۰ گرم از مرکز تحقیقات علوم اعصاب دانشگاه شهید بهشتی خریداری شد و در شرایط دمایی ۲±۲۲

درجه سانتی‌گراد، تحت شرایط ۱۲ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی به طور جداگانه در قفس‌ها نگهداری شدند. موش‌های صحرایی در این آزمایش به دو گروه تقسیم شدند. در گروه اول حیوانات به مدت ۱۰ روز به میزان ۵۰ درصد غذای روزانه خود را دریافت کردند و گروه دوم به عنوان گروه کنترل، حیوانات ۱۰۰ درصد غذای روزانه خود را دریافت می‌کردند. هر دو گروه دسترسی آزادانه به آب داشته‌اند.

حیوانات در هر گروه در صبح روز آزمایش به منظور بررسی دوره سیکلی تحت آزمایش واژینال اسمیر قرار گرفتند تا به ۴ دسته پرواستروس، استروس، دی استروس۱ و دی استروس ۲ تقسیم شدند. در ساعت ۸ صبح روز آزمایش رت‌ها با تزیق داخل صفاقی مخلوط کتامین و زایلزین بیهوش شده و تخمدان آن‌ها به منظور بررسی میزان بیان ژن‌های مورد مطالعه جدا شد و به سرعت در فریزر منفی ۸۰ درجه قرار گرفت. برای ارزیابی بیان ژن گرلین، رسپتور گرلین، آروماتاز و StAR از (PCR) polymerase chain reaction کمی بر اساس روش سایبرگرین استفاده شد. به این منظور از سه کیت استخراج Total RNA از بافت تخمدان (RNX, Sinagene)، کیت سنتز cDNA، (Vivantis)، و کیت real-time PCR (Ampicon) استفاده شد.

RNA کل بر اساس روش فنل/کلروفرم متناسب با دستورالعمل شرکت سازنده تخلیص و غلظت نمونه توسط دستگاه نانودراپ اندازه‌گیری شد. برای ساخت cDNA، از آنزیم M-muLV Reverse transcriptase (شرکت Vivantis) استفاده شد. برای این کار، ۶ میکروگرم از RNA مطلق مرحله قبل را با یک میکرولیتر پرایمر (Oligo dT) و یک میکرولیتر dNTP، ۱۰ میلی‌مولار آب بدون RNase مخلوط شد و به حجم ۱۰ میکرولیتر رسانده شد و به مدت ۵ دقیقه در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد انکوبه و بلافاصله روی یخ قرار داده شد. سپس به محلول اخیر، دو میکرولیتر بافر X ۱۰، ۱۰۰ واحد آنزیم Reverse Transcriptase و ۷/۵ میکرولیتر آب دیونیزه اضافه شد. محلول به مدت یک ساعت در ۴۲ درجه سانتی‌گراد انکوبه شده و برای توقف واکنش، دوباره به مدت ۵ دقیقه در ۸۵ درجه سانتیگراد انکوبه شد. دو جفت پرایمر (شرکت Bioneer-کره جنوبی) برای ارزیابی ژن هدف (گرلین و رسپتور نوع a۱) و یک جفت برای ژن رفرنس (GAPHD) تهیه شد. توالی پرایمرها در جدول شماره ۱ آورده شده است.

برای انجام RT-PCR، از کیت مخصوص واکنش real-time PCR شرکت آمپلیکون استفاده شد. به ازای ۲۵ میکرولیتر حجم واکنش RT-PCR، یک میکرولیتر از هریک از پرایمرهای توالی ژن هدف (گرلین، رسپتور گرلین، آروماتاز و Star) و ژن رفرنس (GAPHD) با غلظت ۲۰ پیکومول و ۲/۵ میکرولیتر از توالی الگو (cDNA به دست آمده از مرحله قبل) به میکروپلیت‌های حاوی ۲/۵ میکرولیتر مستر آمپلیکون اضافه شد و حجم آن با آب بدون RNase به ۲۵ میکرولیتر رسانده شد. مخلوط به دست آمده ورتکس و سپس اسپین شد و بر اساس پروفایل دمایی و زمانی در دستگاه RT-PCR قرار داده شد. داده‌های حاصل از دستگاه ترموسایکلر با نرم‌افزار Rest توسط روش ژن رفرنس نرمالیزه شده و سپس مورد ارزیابی قرار گرفت. وجود باند واحد اختصاصی و باندهای غیر اختصاصی با بررسی منحنی

جدول شماره ۱: پرایمرهای مورد استفاده در real-time PCR

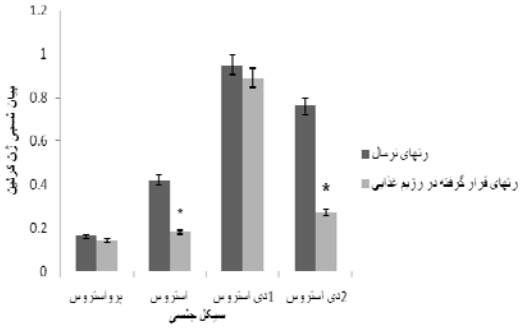
ژن مورد نظر	پرایمر فوروارد	پرایمر ریورس	پروفایل دمایی
گرلین	TTGAGCCCAGAGCACCAGAAA	AGTTGCAGAGGAGGCAGAAGCT	۵۸
رسپتور گرلین نوع 1a	AGGCAACCTGCTCACTATGCTG	GACAAGGATGACCAGCTTCACG	۵۸
آروماتاز	CGTCATGTTGCTTCTCATCG	TACCGCAGGCTCTCGTTAAT	۶۰
StAR	GCCTGAGCAAAGCGGTGTC	CTGGCGAACTCTATCTGGGTCTGT	۶۰
GAPHD	AAGCCAGCATCCTATGATCAGATT	CGTAACCCAGAATACCCTTGAGTTT	۶۰

ذوب حاصل از واکنش کمی مورد بررسی قرار گرفت. همچنین محصولات به‌دست آمده از PCR در آگاروز ۱/۷ درصد الکتروفورز شدند.

تمامی داده‌ها برای مقایسه میانگین بیان ژن گرلین و رسپتور گرلین در گروه‌های با تغذیه نرمال و تحت رژیم غذایی با کمک نرم‌افزار SPSS و با استفاده از آزمون آماری آنووای دوطرفه مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. برای مشاهده معنی‌دار بودن تغییرات از پس آزمون بنفرونی استفاده شد. داده‌ها به صورت Mean±SEM بیان شده و مقادیر p کم‌تر ۰/۰۵ معنی‌دار تلقی گردید.

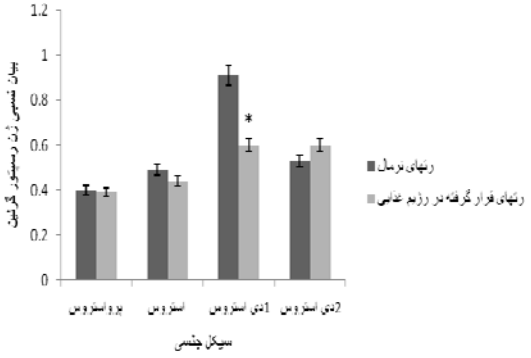
یافته ها

بیان گرلین در تخمدان موش‌های صحرایی نرمال کاملا وابسته به سیکل بوده به طوری‌که میزان mRNA گرلین در فاز پرو استروس در پایین‌ترین حد خود بود درصورتی‌که میزان آن در فاز دی استروس ۱ در بالاترین حد بود (p≤۰/۰۵) (تصویرشماره ۱). بیان گرلین تخمدان در موش‌های صحرایی که تحت محدودیت غذایی ۵۰ درصد قرار گرفته‌اند در مقایسه با موش‌های صحرایی نرمال در فازهای استروس و دی‌استروس ۲ به طور معنی‌داری کاهش یافت (p≤۰/۰۵) (تصویرشماره ۱).



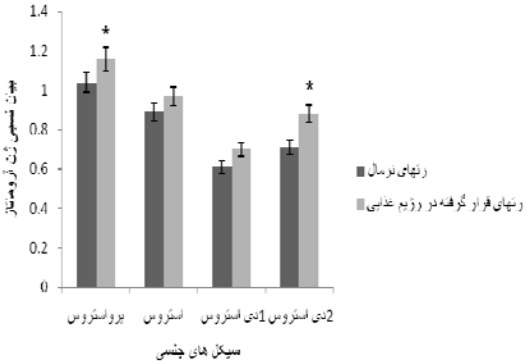
تصویر شماره ۱: میانگین تغییرات بیان نسبی mRNA ژن گرلین در فازهای مختلف سیکل استروس، در رت‌های نرمال و رت ای با محدودیت غذایی ۵۰ درصد. مقادیر به صورت Mean±SEM بیان شده‌اند. *اختلاف معنی‌دار بین فازهای مختلف استروس در گروه کنترل (نرمال) و گروه با محدودیت غذایی است (p≤۰/۰۵).

بیان رسپتور گرلین تخمدان در موش‌های صحرایی که تحت محدودیت غذایی ۵۰ درصد قرار گرفته اند در مقایسه با گروه نرمال در فاز دی استروس ۱ به‌طور معنی‌داری کاهش یافت (p≤۰/۰۵) (تصویر شماره ۲).



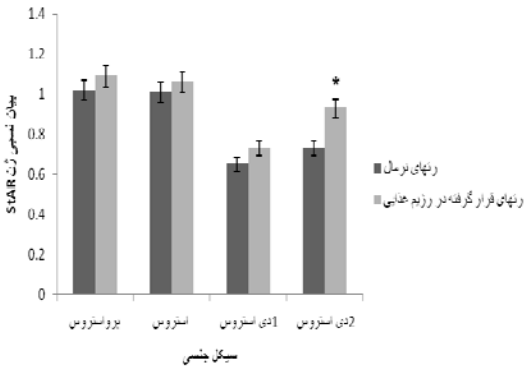
تصویر شماره ۲: میانگین تغییرات بیان نسبی mRNA ژن رسپتور گرلین در فازهای مختلف سیکل استروس، در رت‌های نرمال و رت‌های بامحدودیت غذایی ۵۰ درصد. مقادیر به‌صورت Mean±SEM بیان شده‌اند. *اختلاف معنی‌دار بین فازهای مختلف استروس در گروه کنترل (نرمال) و گروه با محدودیت غذایی است (p≤0.05).

بیان ژن آروماتاز در موش‌های صحرایی که تحت رژیم غذایی ۵۰ درصد قرار گرفته‌اند در مقایسه با گروه نرمال در فاز دی استروس ۲ و پرو استروس به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (p≤۰/۰۵) (تصویر شماره ۳).



تصویر شماره۳: میانگین تغییرات بیان نسبی mRNA ژن آروماتاز در فازهای مختلف سیکل استروس، در رت‌های نرمال و رت های با محدودیت غذایی ۵۰ درصد. مقادیر به صورت Mean±SEM بیان شده‌اند. *اختلاف معنی‌دار بین فازهای مختلف استروس در گروه کنترل (نرمال) و گروه با محدودیت غذایی است (p≤0.05).

بیان ژن Star در موش های صحرایی که تحت رژیم غذایی ۵۰درصد قرار گرفته اند در مقایسه با گروه نرمال در فاز دی استروس ۲ به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (p≤۰/۰۵) (تصویر شماره ۴).



تصویر شماره ۴: میانگین تغییرات بیان نسبی mRNA ژن StAR در فازهای مختلف سیکل استروس، در رت های نرمال و رت های با محدودیت غذایی ۵۰ درصد. مقادیر به صورت Mean±SEM بیان شده‌اند. *اختلاف معنی‌دار بین فازهای مختلف استروس در گروه کنترل (نرمال) و گروه با محدودیت غذایی است (p≤0.05).

بحث

در مطالعه حاضر برای اولین بار نشان داده شد که محدودیت غذایی، بیان گرلین موجود در تخمدان را در همه سیکل‌ها به‌طور معنی‌داری کاهش می‌دهد ولی طرح بیان سیکلیک گرلین همچنان حفظ می‌شود. اما بیان رسپتور گرلین فقط در فاز دی استروس ۱ به‌طور معنی‌داری کاهش میابد.

ارتباط سیستم تولید مثلی با سیستم متابولیکی کاملا اثبات شده است. سیستم تغذیه‌ای روی سیستم تولید مثلی اثرمی‌گذارد که این اثر وابسته به موقعیت متابولیکی، سن و نژاد متفاوت است(۱۸-۱۶) به طور مثال محدودیت غذایی در سنین پایین موجب تاخیر بلوغ جنسی در پرندگان و پستانداران می‌شود(۱۹،۲۰). اما محدودیت غذایی در سنین بالاتر اثرات مثبتی روی عملکرد سیستم تولید مثلی دارد(۲۱،۲۲). از طرف دیگر اختلالاتی مانند هایپرآندروژمیا و سندرم تخمدان پلی کیستیک با رژیم غذایی و کاهش وزن (۵-۶ کیلوگرم) با ۷۰ درصد بهبود وضعیت بدن، بهبود انسولین، هورمون‌های تولید مثلی و تنظیم سیکل قائدگی همراه است(۲۳).

از طرف دیگر، اگرچه نقش گرلین بر تولید مثل اثبات شده است اما این نقش پیچیده و متفاوت است. به طوری که تزریق مرکزی گرلین اثر مهاری بر ترشح GnRH در هیپوتالاموس و همچنین اثر مهاری بر ترشح پالسی LH در هیپوفیز دارد. در صورتی‌که تزریق آن به طور مستقیم روی محیط کشت سلول‌های هیپوفیزی بیان و ترشح LH و FSH را تحریک می‌کند(۲۴).

همچنین دیده شده که سطح پایه گرلین در افرادی که مبتلا به سندرم تخمدان پلی کیستیک هستند پایین بوده، همچنین عملکرد آن با افراد نرمال متفاوت است به‌طوری که در مطالعه ای زنان نرمال و مبتلا به سندرم تخمدان پلی‌کیستیک را تحت رژیم نرمال و با پروتئین قرار دادند. بعد از کاهش وزن افراد نرمال نسبت به افراد مبتلا به سندرم تخمدان پلی‌کیستیک بیش‌تر سیر بوده و کم‌تر گرسنه می‌شدند و گرلین پایه آن‌ها ۷۰ درصد بالاتر از افراد بیمار بود. همچنین این افراد کاهش بیش‌تری در گرلین پس از تغذیه داشتند. از طرف دیگر در ۸ هفته رژیم غذایی، زنان مبتلا به سندرم تخمدان پلی‌کیستیک سطح گرلین پایین‌تری داشتند و میزان کاهش گرلین بعد از غذا در این افراد کم‌تر است(۲۳). بنابراین نمی‌توان گرلین موجود در پلاسمای خون را عامل میانجی در ارتباط بین کاهش وزن و افزایش هورمون‌های استروئیدی در زنان مبتلا به سندرم تخمدان پلی کیستیک دانست.

همچنین مطالعات نشان داده اگر چه گرلین در سطح هیپوفیز اثر تحریکی بر بیان و ترشح LH و FSH می‌گذارد اما این در صورتی است که انکوباسیون محیط کشت سلول‌های گرانولوزا- لوتئین به دست آمده از مایع فولیکولی زنان با تخمک گذاری نرمال با گرلین به صورت تنها و همراه با آنتی بادی مخصوص رسپتور گرلین نشان داد که میزان غلظت استرادیول و پروژسترون

در محیط کشت به طور وابسته به دوزی تحت تاثیر گرلین کاهش میابد. اثر مهاری گرلین در همه دوزها با آنتی‌بادی رسپتور گرلین ghrelin receptor 1-a برداشته شد. این نتیجه به این معنی است که گرلین اثر مهاری بر استروئیدوژنز سلول‌های گرانولوزا- لوتئین داشته و این اثر خود را از طریق رسپتور ghrelin receptor 1-a خود اعمال می‌کند(۲۶،۲۵).

همچنین دیده شده که میزان گرلین در بیضه با سطح سرمی تستسترون رابطه عکس دارد. به‌طوری‌که در افرادی که سطح سرمی تستسترون در آن‌ها بالا است سلول‌های لایدیگ کم‌تری حاوی گرلین هستند در صورتی که در افرادی که سطح سرمی تستسترون پایین است، تعداد سلول های لایدیگ بیش‌تری حاوی گرلین هستند. همچنین نقش مهاری گرلین بر استروئیدوژنز در بیضه نشان داده شد(۲۶). بنابراین می‌توان گفت که گرلین در سطح موضعی اثر مهاری بر استروئیدوژنز دارد. مطالعه حاضر نیز ارتباط عکس بیان گرلین و ژن‌های درگیر در استروئیدوژنز را تایید کرده است به طوری که کاهش گرلین با افزایش بیان ژن‌های درگیر در استروئیدوژنز همراه بوده است.

از آنجایی که محدودیت غذایی منجر به افزایش ترشح پروژسترون می‌گردد. بنابراین می‌توان گفت که محدودیت غذایی با کاهش بیان گرلین تخمدان این اثر را می‌گذارد. در مطالعه ای نشان داده شد که محدودیت غذایی ترشح LH را مهار می‌کند و همچنین برداشتن تخمدان و مهار اثر پروژسترون نیز نتوانست کاهش ترشح LH حاصل از محدودیت غذایی را مهار کند(۲۷). این نشان می‌دهد که عاملی غیر از گنادوتروپین‌ها بر ترشح پروژسترون و استروئیدوژنز اثر دارد. بنابراین با توجه به این‌که بیان گرلین موجود در تخمدان در محدودیت غذایی کاهش می‌یابد و همین‌طور با توجه به اثر مهاری گرلین می‌توان گفت که گرلین موجود در تخمدان ممکن است عامل میانجی در ارتباط با محدودیت غذایی و کاهش وزن باشد.

سپاسگزاری

از همکاری دانشگاه شهید بهشتی که در تامین هزینه های انجام این تحقیق یاری نمودند کمال تشکر و قدردانی را داریم.

References

1. Horvath TL, Diano S, Sotonyi P, Tschop M. Minireview: Ghrelin and the regulation of energy balance-a hypothalamic prespective. Endocrinol Ogy 2001; 142(10): 4163-4169.
2. Van der Lely AJ, Tschop M, Heiman ML, Ghigo E. Biological, physiological, pathophysiological, and pharmacological aspects of ghrelin. Endocin Rev 2004; 25(3): 426-457.
3. Cummings DE, Purnell JQ, Frayo RS, Schmidova K, Wisse BE, Weigle DS. A preprandial rise in plasma ghrelin levels suggests a role in meal initiation in humans. Diabetes 2001; 50(8): 1714-1719.
4. Tschop M, Smiley DL, Heiman ML. Ghrelin induces adiposity in rodents. Nature 2000; 407(6806): 908-913.
5. Guan XM, Yu H, Palyha OC, McKee KK, Feighner SD, Sirinathsinghji DJ et al. Distribution of mRNA encoding the growth hormone secretagogue receptor in brain and peripheral tissues. Brain Res Mol Brain Res 1997; 48(1): 23-29.
6. Fernandez-Fernandez R, Tena-Sempere M, Roa J, Castellano JM, Navarro VM, Aguilar E, et al. Direct stimulatory effect of ghrelin on pituitary release of LH through a nitric oxide-dependent mechanism that is

modulated by estrogen. Reproduction 2007; 133(6): 1223-1232.

7. Sirotkin AV, Meszarosova M. comparison of effects of leptin and ghrlein on porcine ovarian granulose cells. Domestic Animal Endocrinol 2010; 39(1): 1-9.
8. Tropea A, Tiberi F, Minici F, Orlando M, Gangale MF, Romani F, et al. Ghrelin Affects the release of luteolytic and luteotropic factors in human luteal cells, J Clin Endocrinol Metab 2007; 92(8): 3239-3245.
9. Mitkov M, Pehlivanov B, Orbetzova M. Serum ghrelin level in women with polycystic ovary syndrome and its relationship with endocrine and metabolic parametes. Gynecol Endocrinol 2008; 24(11): 625-630.
10. Panisid D, Asteriadis C, Georgopoulos NA, Katsikis I, Zournatizi V, Karkanaki A, et al. Decreased active, total and altered active to total ghrelin ratio in normal weight womwn with the more severe form of polycystic ovary syndrome. Eur J Obstet Cynecol Reprod Biol 2010; 149(2): 170-174.
11. Caminos JE, Tena-Sempere M, Gaytan F. Expression of ghrelin in the cyclic and pregnant rat ovary. Endocrinology 2003; 144(4): 1594-1602.
12. Gaytan F, Barreiro ML, Chopin LK, Herington AC, Morales C, Pinilla L, et al. Immunolocalization of ghrelin and its functional receptor, the type 1a growth hormone secretagogue receptor, in the cyclic human ovary. J Clin Endocrinol Metab 2003; 88(2): 879-887.
13. Gaytan F, Morales C, Barreiro ML, Jeffery P, Chopin LK, Herington AC, et al. Expression of growth hormone secretagogue receptor type 1a, the functional ghrelin receptor, in human ovarian surface epithelium, mullerian duct derivatives, and ovarian tumors. J Clin Endocrinol Metab 2005; 90(3): 1798-1804.
14. Cominos JE, Tena-Sempere M, Gaytan F, Sanchez-Criado JE, Barreiro ML, Nogueiras R, et al. Expression of ghrlein in the cyclin and pregnant rat ovary. Endocrinology 2003; 144(4): 1594-1602.
15. Stocco DM. The role of the StAR protein in sterioidogenesis: challenges for the future. J Endocrinol 2000; 164(3): 247-253.
16. Shanley DP, Kirkwood TB. Caloric restriction does not enhance longevity in all species and is unlikely to do so in humans. Biogerontology 2006; 7(3): 165-168.
17. Harper JM, Leathers CW, Austad SN. Does caloric restriction extend life in wild mice? Aging Cell 2006; 5(6): 441-449.
18. Ferguson M, Rebrin I, Forster MJ, Sohal RS. Comparison of metabolic rate and oxidative stress between two different strains of mice with varying response to caloric restriction. Exp Gerontol 2008; 43(8): 757-763.
19. Merry BJ, Holehan AM. Onset of puberty and duration of fertility in rats fed a restricted diet. J Reproduc Fertil 1979; 57(3): 253-259.
20. Zeinoaldini S, Swarts JJ, Vad de Heijning BJ. Chronic leptin infusion advances, and immunoneutralization of leptin postpones puberty onset in normally fed and feed restricted female rats. Peptides 2006; 27(7): 1652-1658.
21. Selesniemi K, Lee HJ, Tilly JL. Moderate caloric restriction initiated in rodents during adulthood sustains function of the female reproductive axis into advanced chronological age. Aging Cell 2008; 7(5): 622-629.
22. Rocha JS, Bonkowski MS, de Franca LR, Bartke A. Effects of mild calorie restriction on reproduction, plasma parameters and

hepatic gene expression in mice with altered GH/IGF-I axis. Mech Ageing Dev 2007; 128(4): 317-331.

23. Moran LJ, Noakes M, Clifton PM, Wittert GA, Tomlinson L, Calletly C et al. Ghrelin and measures of satiety are altered in polycystic ovary syndrome but not differentilally affected by diet composition. J Clin Endocrinol Metab 2004; 89(7): 337-3344.
24. Furuta M, Funabashi T, Kimura F. Intracerebroventricular administration of ghrelin rapidly suppresses pulsatile luteinizing hormone secretion in ovariecomized rats. Biochem Biophys Res Commun 2001; 288(4): 780-785.
25. Viani I, Vottero A, Tassi F, Cremonini G, Sartori C, Bernasconi S, et al. Ghrelin inhibits steroid biosynthesis by cultured granulose-lutein cells. J Clin Endocrinol Metab 2008; 93(4): 1476-1481.
26. Ishikiwa T, Fujioka H, Ishimura T, Takenaka A, Fujisawa M. Ghrelin expression in human testis and serum testosterone level. J Androl 2007; 28(2): 320-324.
27. Walkr CD, Mitchell JB, Woodside BC. Suppression of LH secretion in food-restricted lactating females: effects of ovariectomy and bromocryptine treatment. J Endocrinol 1995; 146(1): 95-104.