

بررسی اثر استرادیول و هورمون رشد بر میانگین غلظت پلاسمایی گرلین در میش‌های بالغ با تغذیه محدود شده

گلناز بهداوند^{۱*}، همایون خزعلی^۱ و حسین رکنی^۲

^۱ تهران، دانشگاه شهید بهشتی، دانشکده زیست‌شناسی

^۲ تهران، مؤسسه عالی علمی کاربردی جهاد کشاورزی

تاریخ دریافت: ۹۲/۵/۱۸ تاریخ پذیرش: ۹۴/۲/۱۶

چکیده

گرلین هورمونی اشتهازا است که به طور عمده از معده انسان ترشح می‌شود. استرادیول اثر منفی بر میزان گرلین دارد. هدف از این تحقیق بررسی اثر استرادیول و استرادیول به‌همراه هورمون رشد بر میانگین غلظت گرلین در گوسفندان تحت تغذیه محدود شده می‌باشد. ده رأس گوسفند به طور تصادفی به دو گروه تقسیم شدند و طی یک هفته تحت جیره‌های غذایی نرمال و محدود شده قرار گرفتند. دو گروه استرادیول (۲ mg/kg) (T.D)، استرادیول (۲ mg/kg) (T.D) به‌همراه هورمون رشد (0.1mg/kg) (I.V) را در روزهای ۷ و ۸ دریافت نمودند. میانگین غلظت گرلین بوسیله‌ی رادیوایمنواسی اندازه‌گیری شد. در گروه محدود شده میانگین غلظت گرلین در روز هفتم نسبت به روز اول افزایش نشان داد که از نظر آماری معنی‌دار بود ($p \leq 0.05$)، اما در گروه نرمال افزایش معنی‌دار مشاهده نشد. استرادیول منجر به کاهش معنی‌داری ($p \leq 0.05$) در هر دو گروه شد. تزریق همزمان استرادیول و رشد افزایش معنی‌داری ($p \leq 0.05$) در دو گروه نشان داد. در نتیجه می‌توان گفت محدودیت غذایی باعث افزایش میزان گرلین می‌شود. استرادیول اثر منفی بر ترشح گرلین دارد. هورمون رشد اثر افزایشی بر ترشح گرلین دارد و این اثر افزایشی قوی‌تر از اثر کاهشی استرادیول بر میزان گرلین می‌باشد. شایان ذکر است که تأثیر همزمان این دو هورمون تا کنون در گوسفند بررسی نشده است.

واژه‌های کلیدی: گرلین، استرادیول، هورمون رشد، گوسفند

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۳۵۷۵۳۱۶۸، پست الکترونیکی: G_behdavand@yahoo.com

مقدمه

تأثیر آن بر روی NPY (نوروپپتید Y) و AGRP (پپتید وابسته به آگوتی) اعمال می‌شود، گرلین سبب افزایش سنتز نوروپپتیدهای NPY و AGRP در هسته‌های کمانی هیپوتالاموس می‌شود که NPY و AGRP نیز به نوبه خود سبب افزایش سیگنال‌های گرسنگی و در نتیجه افزایش اشتها می‌شود (۳۱). مساله مهم در مورد گرلین این است که آیا تفاوت‌های جنسی در اثرات اشتهازایی گرلین مؤثرند یا خیر، مهمترین تفاوت‌های جنسی عمدتاً به وسیله‌ی استرادیول (E_2) میانجی‌گری می‌شود. از طرفی هورمون‌های

گرلین یک پپتید معده ای-معزی است که یک لیگاند درونزاد برای رسپتور GHSR-a هورمون رشد می-باشد. گرلین دارای ساختمان منحصر به فردی است که به سرین شماره ۳ آن یک اسید چرب متصل شده است و این فرایند برای انجام عمل بیولوژیکی آن ضروری است. گرلین هورمونی اشتهازا است، مهم‌ترین فاکتور برای ترشح گرلین تغذیه است طوری که غلظت پلاسمایی آن طی روزه داری و گرسنگی افزایش و با دریافت غذا کاهش می‌یابد (۲۲). اثر تحریکی گرلین بر روی تغذیه از طریق

می‌باشد. تأثیر همزمان این هورمون‌ها بر میانگین غلظت پلاسمایی گرلین تا کنون در گوسفند بررسی نشده است.

مواد و روشها

برای انجام این پژوهش از ۱۰ گوسفند بالغ (۳۰-۴۰kg) از نژاد زندگی که به طور تصادفی انتخاب شده بودند استفاده شد. سپس این حیوانات در دو گروه تحت رژیم‌های غذایی نرمال و محدود شده (۵۰٪ از میزان غذای دریافتی روزانه گروه نرمال) قرار گرفتند. این تحقیق در ایستگاه اصلاح نژاد و پرورش گوسفند زندگی واقع در منطقه خوجیر وابسته به جهاد کشاورزی انجام شد. دو گروه به مدت یک هفته تحت این جیره‌های غذایی بودند. به غیر از جیره‌های غذایی تمامی شرایط محیط نگهداری برای هر دو گروه یکسان قرار داده شد. روز هفتم ابتدا نمونه‌های خونی اولیه با استفاده از ونوجکت های ۱۰cc بدست آمد، سپس هورمون ۱۷-بتا استرادیول (۲mg/kg) به صورت زیرپوستی (Transdermal) با استفاده از سرنگ ۵ cc تزریق شد و سپس نمونه‌های خونی ثانویه با استفاده از لوله‌های خلاء‌دار (ونوجکت) از رگ وداج گرفته شد. روز هشتم نیز ابتدا خونگیری انجام شد و سپس هورمون رشد (۰,۱mg/kg) به صورت درون وریدی (Intravenous) بهمراه ۱۷-بتا استرادیول (۲mg/kg) تزریق و سپس نمونه‌های خونی ثانویه دریافت شد. هر روز نمونه‌های خونی قبل و بعد از تزریق از طریق رگ وداج جمع‌آوری شد. دریافت نمونه‌های خونی اولیه ساعت ۹:۰۰، تزریق استرادیول ۹:۳۰، تزریق هورمون رشد ۱۱:۱۰ و دریافت نمونه‌های خونی ثانویه ۱۱:۳۰ هر روز صورت گرفت. پلاسمای نمونه‌های خونی توسط دستگاه سانتریفیوژ با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه جدا شد. سپس غلظت پلاسمایی هورمون گرلین در نمونه‌ها با استفاده از کیت‌های رادیوایمنواسی (تابشبار نور-ایران-تهران) اندازه‌گیری شد. برای تجزیه و تحلیل داده‌های آماری بدست آمده از آزمون آماری t test جفت شده

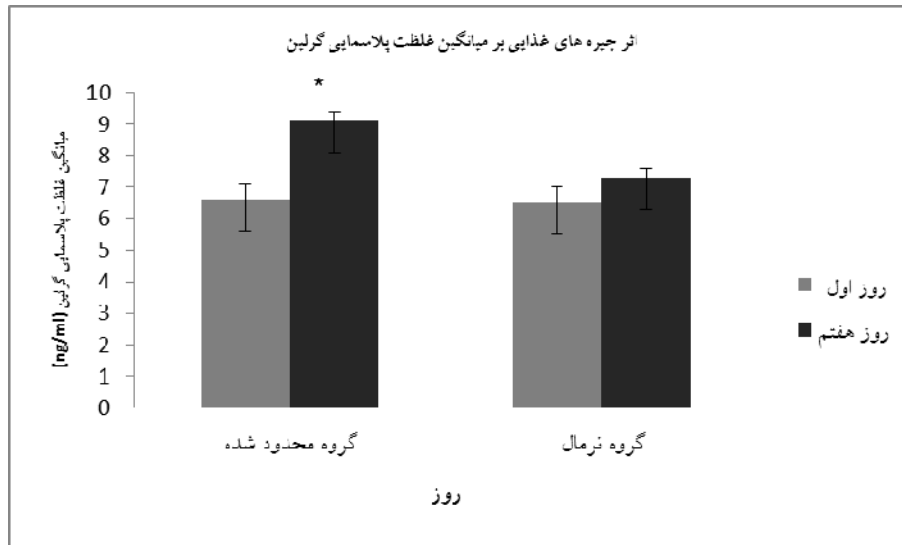
تخمندان به طور مؤثری تغذیه را در جنس نر و ماده کنترل می‌کنند که به طور عمده این کار توسط اثرات E_2 صورت می‌گیرد (۴). در رت‌ها و موش‌ها، E_2 اثرات مهارری روی وزن بدن و میزان مصرف غذای روزانه در سراسر سیکل تخمدانی اعمال می‌کند همچنین اثرات مهارری مرحله‌ای یا دوره‌ای طی دوران قبل از تخمک‌گذاری ایجاد می‌کند و حذف این اثر منجر به افزایش قند خون و چاقی می‌شود (۱۵). کاهش مشابه در مصرف غذای روزانه طی دوران قبل از تخمک‌گذاری و همچنین افزایش اشتها که بعد از دوران یائسگی در خانم‌ها رخ می‌دهد ممکن است همسو با اثرات E_2 در جانوران باشد (۷). E_2 همچنین اثر اشتهازایی $i3vt$ (intra-third ventricular) گرلین را در رت‌های نر کاهش می‌دهد و این موضوع نشان می‌دهد که اثرات استروژنیک در هر دو جنس وجود دارد. همچنین در رت‌ها و موش‌ها $i3vt$ گرلین غذا خوردن را طی $Diestrus_1$ و $Diestrus_2$ افزایش می‌دهد در حالی که در مراحل پرو استروس و استروس افزایش نمی‌دهد، ماکزیمم غذا خوردن طی دوران $Diestrus_1$ و مینیمم غذا خوردن طی دوران استروس است. E_2 همچنین اثرات اشتهازایی گرلین را به وسیله‌ی کم کردن ترشح گرلین کاهش می‌دهد (۱۴). Thammacharoen و همکارانش چنین بیان کردند که E_2 آگزوژن با اثر بر نورون‌های بیان‌کننده ER-آلفا در هسته tractussolitaris (NTS) اثر منفی خود را روی غذا خوردن اعمال می‌کند (۲۹) و تزریق گرلین به درون NTS اشتها را در رت‌های نر افزایش می‌دهد (۱۶). همچنین تزریق استروژن غلظت GH را در سرم زنان یائسه (۲۵) و در ماده‌های نابالغ دارای هیپوگنادیسم (۲۷) افزایش می‌دهد و پیشنهاد شده است که گرلین ممکن است اثرات شناخته شده استروژن را بر محور GH میانجیگری کند (۹). هدف از انجام این تحقیق بررسی اثر هورمون 17-b-Estradiol و همچنین بررسی اثر همزمان هورمون رشد و 17-b-Estradiol بر میانگین غلظت پلاسمایی گرلین در گوسفند

در میانگین غلظت گرلین مشاهده نشد (نمودار ۱). تزریق ۱۷-بتا استرادیول (2mg/kg) در روز هفتم منجر به کاهش معنی‌داری در میانگین غلظت پلاسمایی گرلین در هر دو جیره غذایی شد. همچنین مشاهده شد که تزریق ۱۷-بتا استرادیول (2mg/kg) به‌همراه هورمون رشد (0.1mg/kg) باعث افزایش معنی‌داری در میانگین غلظت پلاسمایی گرلین در هر دو گروه با جیره غذایی نرمال و محدود شده گردید (نمودارهای ۲ و ۳).

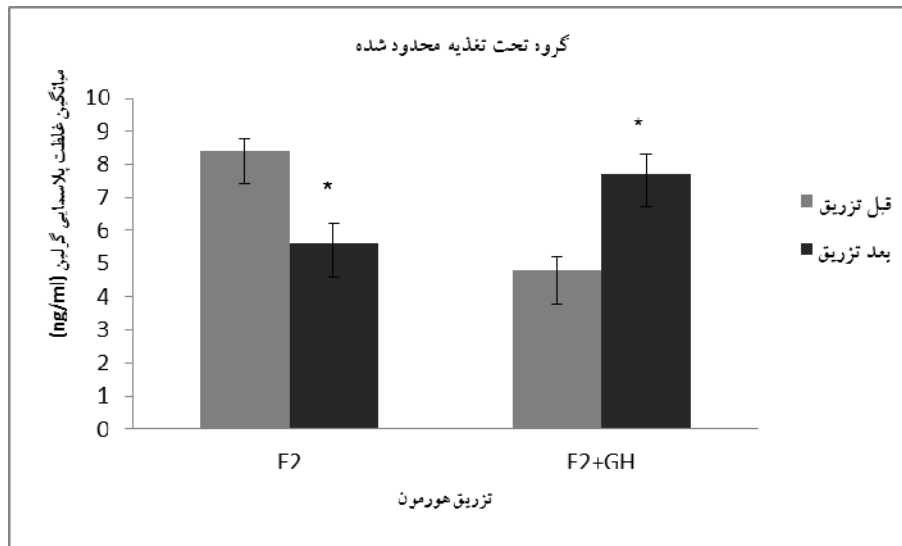
استفاده شد و نتایج بدست آمده تفسیر گردید. کلیه عملیات آماری به کمک رایانه و با استفاده از نرم‌افزار spss انجام شد.

نتایج

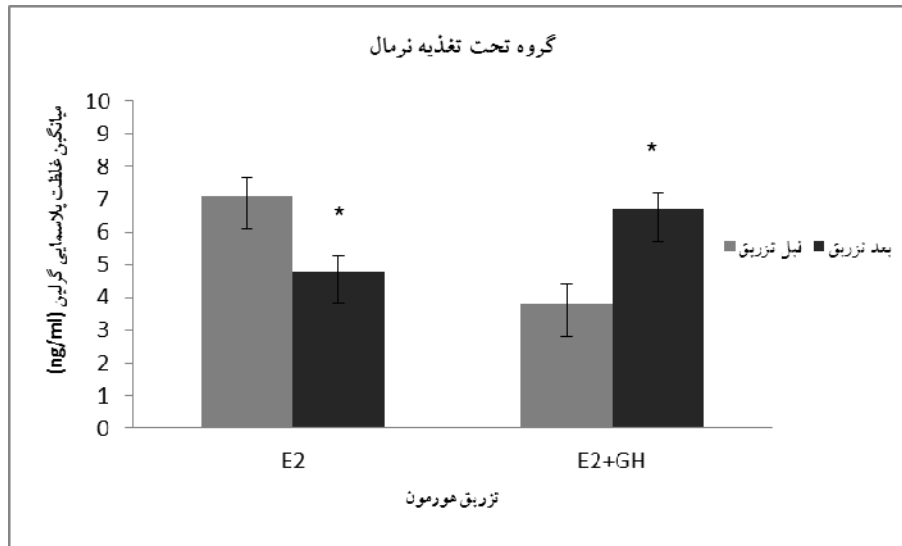
مطابق نتایج حاصل از آنالیز داده‌ها در گروه تحت جیره‌ی غذایی محدود شده میانگین غلظت گرلین در روز هفتم نسبت به روز اول افزایش نشان داد که از نظر آماری معنی‌دار بود. در گروه با جیره‌ی غذایی نرمال افزایش معنی‌دار



نمودار ۱- بررسی میانگین غلظت پلاسمایی گرلین در روز ۷ نسبت به روز ۱ در دو گروه تحت جیره‌های غذایی محدود شده و نرمال



نمودار ۲- اثر تزریق استرادیول (2mg/kg) و استرادیول (2mg/kg) به‌همراه هورمون رشد (0.1mg/kg) بر میانگین غلظت پلاسمایی گرلین در گروه تحت تغذیه محدود شده



نمودار ۳- اثر تزریق استرادیول (۲ mg/kg) و استرادیول (۲mg/kg) به همراه هورمون رشد (۰.۱mg/kg) بر میانگین غلظت پلاسمایی گرلین در گروه تحت تغذیه نرمال

بحث

انسان غلظت گرلین پلازما کمی قبل از غذا خوردن به دو برابر میزانش افزایش می‌یابد و یک ساعت پس از مصرف غذا به سطح پایه بر می‌گردد (۱۲). در ادامه به برخی از مکانیسم‌های احتمالی درگیر در اثر محدودیت غذایی بر افزایش میزان گرلین اشاره شده است.

لپتین پپتید ۱۶۷ اسیدآمینهای است که به طور عمده از بافت چربی سفید و به میزان کمتر توسط بافت‌های دیگر نظیر بافت چربی قهوه‌ای، تخمدان، جفت و غیره سنتز شده و از طریق مهار بیان پپتیدهای مغزی اشتها زا (NPY, Galanin, AGRP, Orexin) و تحریک بیان پپتیدهای ضد-اشتها به عنوان هورمون ضد اشتها عمل می‌کند، نرون‌های POMC (proopiomelanocortine) هسته‌ی Arcuate جایگاه اولیه‌ی اثر هورمون لپتین جهت ایجاد اثرات ضد اشتها می‌باشد. لپتین باعث مهار بیان mRNA گرلین در بافت معده می‌شود و همچنین باعث مهار بیان mRNA گرلین در پاسخ به تحریک استروژن معده می‌شود. تحت شرایط Fasting (گرسنگی طولانی مدت) افزایش میزان گرلین همزمان با کاهش میزان لپتین و تضعیف اثر مهار لپتین بر مسیر پیام‌رسانی NPY می‌تواند عامل اصلی ایجاد اشتها و محرک تغذیه باشد (۱۸). گرلین علاوه بر افزایش

نتایج حاصل از آنالیز داده‌ها نشان داد که جیره‌ی غذایی محدود شده سبب افزایش معنی‌دار میانگین غلظت پلاسمایی هورمون گرلین در روز ۷ نسبت به روز اول شد ($P < 0/05$). در حالی که جیره‌ی غذایی نرمال افزایش معنی‌داری در میانگین غلظت هورمون گرلین در روز ۷ نسبت به روز اول آزمایش ایجاد نکرد. در نتیجه می‌توان اینگونه استنباط کرد که گرسنگی منجر به افزایش میزان گرلین می‌شود. نتایج بدست آمده از این تحقیق منطبق بر نتایج مطالعات قبلی در جوندگان و پریمات‌ها می‌باشد، تحقیقات متعدد پیشین نشان نیز نشان داده‌اند که میزان گرلین پلازما در شرایط محدودیت غذایی افزایش می‌یابد. میزان گرلین پلازما و میزان mRNA گرلین معده طی محدودیت غذایی در رت‌های باردار و رت‌های ماده‌ی با سیکل نرمال افزایش پیدا کرد (۱۹). در نوزادان خوک نیز غلظت گرلین پس از ۷۲ ساعت محدودیت غذایی بیشتر از میزان آن در ۶ تا ۴۸ ساعت پس از غذا خوردن بود (۱۷، ۲۶). نتایج مشابهی در انسان (۱۲)، گاو (۲۰)، گوسفند (۲۸) و در جوندگان (۳۰) گزارش شده است. در

وجود دارد (۸) بنابراین استرادیول ممکن است تا حدودی اثرات اشتهازایی و در نتیجه افزایش گرلین را از طریق کاهش میزان بیان NPY و AGRP مهار کند. استرادیول تزریقی با اثر بر $ER\alpha$ در سلول‌های بتای پانکراس سبب افزایش بیان و ترشح انسولین شده و از این طریق میزان گلوکز خون را کاهش می‌دهد (۳). استرادیول سبب حساسیت بیشتر عملکرد گیرارکسیژنیکی این نوروپتید می‌شود (۱۰). همانطور که در قسمت‌های قبل اشاره شد انسولین به عنوان هورمون ضد اشتها عمل کرده و تزریق آگزوژن آن باعث کاهش بیان ژن‌های تحریک‌کننده دریافت غذا نظیر گرلین، NPY، AGRP و غیره و افزایش بیان ژن‌های مهارکننده دریافت غذا نظیر لپتین، αMSH و غیره شده و به این ترتیب سبب کاهش اشتها و وزن بدن می‌شود (۲۱). تا کنون اثر تزریق هورمون رشد در نشخوارکنندگان با غلظت بالای استرادیول بر میزان ترشح گرلین گزارش نشده است، در این تحقیق ما اثر تزریق هورمون رشد بر میانگین غلظت پلاسمایی گرلین را در گوسفندان با غلظت بالای استرادیول بررسی کردیم. هورمون رشد جزء هورمون‌های متابولیکی است که در تنظیم متابولیسم پروتئین‌ها، کربوهیدرات‌ها و چربی‌ها نقش داشته و رفتار تغذیه‌ای را تحت تأثیر قرار می‌دهد. نشان داده شده است که هورمون رشد و گیرنده‌های آن در نواحی مغزی درگیر در تنظیم رفتار تغذیه، بالانس انرژی و انگیزه برای مصرف غذا نظیر هیپوتالاموس، هیپوکمپ و آمیگدال یافت می‌شود و این احتمال به وجود آمده است که هورمون رشد اثرات خود بر رفتار تغذیه‌ای را از طریق این نواحی سیستم عصبی مرکزی (CNS) اعمال کند (۵). نتایج اکثر تحقیقات قبلی مبنی بر این است که هورمون رشد دارای اثر مهاری بر میزان گرلین می‌باشد. در رت‌ها به کار بردن GH باعث کاهش بیان و ترشح گرلین معده شد (۱۳). تحقیقات نشان داده‌اند در افرادی که تحت محدودیت غذایی قرار دارند با تزریق هورمون رشد و افزایش سطح پلاسمایی آن، سطح پلاسمایی گرلین کاهش

اشتها، از طریق کاهش هورمون‌های تیروئیدی و متابولیسم پایه بدن نیز در ایجاد چاقی نقش مهمی ایفا می‌کند (۱). تحقیقات نشان داده‌اند که کاهش در میزان چربی بدن و همچنین میزان انسولین می‌تواند عامل ایجاد کاهش در سطح لپتین در شرایط Fasting باشد. برخی مطالعات نشان داده‌اند که حذف انسولین از سلول‌های بافت چربی باعث کاهش چشمگیر محتوی mRNA لپتین در آنها می‌شود (۱۸). انسولین هورمون ۵۵ اسیدآمینه‌ای است که از سلول‌های بتای پانکراس ترشح می‌شود. انسولین به عنوان هورمون ضد اشتها عمل کرده و تزریق آگزوژن آن باعث کاهش بیان ژن‌های تحریک‌کننده دریافت غذا نظیر گرلین، NPY، AGRP و غیره و افزایش بیان ژن‌های مهارکننده دریافت غذا نظیر لپتین، αMSH و غیره شده و به این ترتیب سبب کاهش اشتها و وزن بدن می‌شود (۲۱). در مطالعه‌ای که بوسیله‌ی Bunomo & Baile, 1991 انجام شد محدودیت غذایی ۴۸ ساعته باعث کاهش میزان انسولین در خوک‌های در حال رشد شد (۱۱). همچنین تزریق گرلین به داوطلبان سالم انسانی سبب ایجاد احساس گرسنگی همراه با افزایش میزان گلوکز و به دنبال آن کاهش میزان انسولین شد (۸). تزریق $17-\beta$ estradiol در روز هفتم آزمایش منجر به کاهش میانگین غلظت پلاسمایی گرلین در هر دو جیره غذایی شد. این نتایج منطبق بر نتایج تحقیقات پیشین مبنی بر اثر منفی استرادیول بر میانگین غلظت گرلین می‌باشد. طبق تحقیقات انجام شده تزریق استروژن در رت‌های OVX (ovarectomized) منجر به کاهش تعداد سلول‌های تولیدکننده گرلین، سطح mRNA گرلین در معده و سطح گرلین پلازما شد (۲۴). برداشتن تخمدان‌ها در موش‌های Wild type موجب افزایش وزن بدن و تمایل به خوردن می‌شود و نشان می‌دهد که برداشتن تخمدان موجب از بین رفتن اثر مهاری قوی استرادیول بر غلظت پلاسمایی گرلین می‌شود (۶). از آنجایی که استرادیول اثر منفی بر بیان NPY و AGRP دارد و چون ارتباط مستقیمی بین بیان گرلین، NPY و AGRP

کردیم تاکنون مطالعه‌ای در این زمینه در نشخوارکنندگان یا گونه‌های دیگر صورت نگرفته است تا بتوانیم نتایج حاصل را با آن‌ها مقایسه کنیم. در نهایت نتایج بدست آمده از این تحقیق نتایج تحقیقات قبلی را مبنی بر اثر کاهشی استرادیول بر میانگین غلظت پلاسمایی گرلین تایید می‌کند. همچنین بیان می‌کند که هورمون رشد نیز اثر مثبت بر ترشح گرلین دارد که این اثر مثبت قوی تر از اثر کاهنده استرادیول بر غلظت گرلین می‌باشد.

می‌یابد. که این امر می‌تواند در اثر فیدبک منفی هورمون رشد بر میزان ترشح گرلین باشد (۲۳). در ای میان برخی مطالعات دیگر نیز اثر مثبت هورمون رشد را بر میزان گرلین در گونه‌های دیگر معرفی نموده اند (۲). مطابق نتایج بدست آمده از این تحقیق تزریق هورمون رشد در گوسفندان با غلظت بالای استرادیول در هر دو جیره‌ی غذایی منجر به افزایش میانگین غلظت پلاسمایی گرلین شد. از آنجا که ما اثر هورمون رشد بر ترشح گرلین را در گوسفندان با غلظت بالای استرادیول برای اولین بار بررسی

منابع

- ۱ - خزعلی ه و محمودی ف. ۱۳۸۹. اثر برهم کنش گرلین و آنالوک ماده P بر فعالیت مخور تیروئیدی در موشهای صحرائی. مجله زیست‌شناسی ایران. جلد ۲۳. ۲۱۴-۲۰۷.
- 2 - Agnieszka R and Eva LG. 2008, local feedback loop of ghrelin-GH in the pig ovary: Action on estradiol secretion, aromatase activity and cell apoptosis. *Growth hormone and IGF Research*, vol 18, 221-227.
- 3 - Alonso-Magdalena P, Ropero A. B. and et al. 2008. Pancreatic Insulin Content Regulation by the Estrogen Receptor Era. *PLoS ONE*. 3(4): e2069- 2071.
- 4 - Asarian L, Geary N. 2006, Modulation of appetite by gonadal stroidhormones. *Philos Trans R SocLond B Biol Sci*, 361:1251-1263.
- 5 - Azain M.J., Roberts T.J., Martint R.J., Kasser T.R., 1995. Comparison of daily versus continuous administration of somatotropin on growth rate, feed intake, and body composition in intact female rats. *J Animsci*. 73:1019-1029.
- 6 - Barkan A.L., Dimaraki E.V., Jessup S.K., Symons K.V., Ermolenko M. and Jaffe C.A., 2003, Ghrelin secretion in human is sexually dimorphic, suppressed by somatostatin , and not affected by the ambient growth hormone levels. *J. Clin . Endocrinol.Metab*. 88 :2180-2184.
- 7 - Blaustein J.D., Wade G.N., 1976, Ovarian influences on the meal patterns of female rats. *Physiol Behav*, 17:201-208.
- 8 - Broglio F, Arvat E, Benso A, Gottero C, Muccioli G, Papotti M, Vander lely AJ, Deghenghi R and Ghigo E, 2001, Ghrelin a natural GH secretagogue produced by the stomach, induces hyperglycemia and reduced insulin secretion un humans, *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 86(10):5083-5086.
- 9 - Broglio F, Benso A, Castiglioni C, Gottero C, Prodham F, Destefanis S, Gauna C, Vanderlely AJ, Degheng R, Bo M, Arvat E, Ghig E. 2003, The endocrine response to ghrelin as a function of gender in humans in young and elderly subjects. *JClinEndocrinol Metab*, 88: 1537-1542.
- 10 - Brown L.M. and Clegg D.J., 2009. Central effects of estradiol in the regulation of food intake, body weight, and adiposity. *Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology*.
- 11 - Buonomo F.C. and Baile C.A., 1991, Influence of nutritional deprivation on insulin-like growth factor I, Somatotropin and metabolic hormones in Swine, *J. Anim. Sci.*, 69:755.
- 12 - Cummings D.E., Purnell J.Q., Frayo R. S., Schmidova K, Wisse B.E. and Weigle S, 2001, A preprandial rise in plasma ghrelin levels suggests a role in meal initiation in humans, *Diabetes*, 50:1714.
- 13 - Debeljuk L, Wright JC, Phelps C, Bartke A, 1999, Transgenic mice overexpressing the growth-hormone-releasing hormone gene have high concentrations of tachykinins in the anterior pituitary gland., *Neuroendocrinology*, 70: 107-116.
- 14 - Deborah J. Clegg, Lynda M. Brown, Jeffrey M. Zigman, Christopher J. Kemp, April D. Strader, Stephen C. Benoit, Stephen C. Woods, Michela M and Nori G. 2007, Estradiol dependent

- decrease in the orexigenic potency of ghrelin in female rats. *Diabetes*, vol 56, no 4, 1051-1058.
- 15 - Drewett R.F., 1973, Sexual behavior and sexual motivation in the female rat. *Nature*, 242:476-477.
- 16 - Faulconbvilge L.F., Cummings D.E., Kaplan J.M., Grill H.J., 2003, Hyperphagic effects of brainstem ghrelin administration, *Diabetes*, 52: 2260-2265.
- 17 - Govoni N, De Iasio R, Cocco C, Parmeggiani A, Galeati G, Pagotto U, Brancia C, Spinaci M, Tamanini C, Pasquali R, Ferri G.L. and Seren E, 2005, Gastric immunolocalization and plasma profiles of acyl-ghrelin in fasted and fasted-refed prepuberal gilts, *J. Endocrinol*, 186:505.
- 18 - Grinspoon S, Miller K.K., Herzog D.B., Grieco K.A. and Klibanski A, 2004, Effects of Estrogen and Recombinant Human Insulin-Like Growth Factor-I on Ghrelin Secretion in Severe undernutrition, *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 89(8):3988-3993.
- 19 - Gualillo O, Caminos J.E., Nogueiras R, Seoane L.M., Arvat E, Ghigo E, Casanue F.F., Dieguez C. 2002. Effects of food restriction on ghrelin in normal- cycling female rats and in pregnancy. *Obes Res*. 10: 682-687.
- 20 - Hayashida T, Murakami K, Mogi K, Nishihara M, Nakazato M, Mondal M.S., Horii Y, Kojima M, Kangawa K and Murakami N, 2001, Ghrelin in domestic animals: Distribution in stomach and its possible role, *Domest Anim Endocrinol* . 21:17.
- 21 - Kimzig K.P., Hargrave S.L., Tao E.E., 2009. Central and peripheral effects of chronic food restriction and weight restoration in the rat. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 296: 282-290.
- 22 - Kojima M, Kangawa K, 2004. Ghrelin: structure and function. *Physiol Rev*. 85: 495-512.
- 23 - Koutkia P, Schurgin S, Berry J, Breu J, Lee BSH, Klibanski A, Grinspoon S. 2005. Reciprocal changes in endogenous ghrelin and growth hormone during fasting in healthy women. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 289: 814-822.
- 24 - Matsubara M, Sakata I, Wada R, Yamazaki M, Inoue K, Sakai T, 2004, Estrogen modulates ghrelin expression in the female rat stomach. *Peptides*, 25: 289-297
- 25 - Murras N, Rogol A.D., Veldhuis J.D., 1990, Increased hGH production rate after low-dose estrogen therapy in prepubertal girls with turners syndrome. *Pediatr Res*, 28: 626-630.
- 26 - Salfen B.E., Carroll J.A. and Keisler D.H., 2003, Endocrine responses to short-term feed deprivation in weanling pigs, *J. Endocrinol*, 178:541.
- 27 - Shah N, Evans W.S., Bowers C.Y., Veldhuis J.D., 1999, Tripartite neuroendocrine activation of the human growth hormone(GH) axis in women by continuous 24-hour GH-releasing peptide infusion:pulsatile,entropic and nyctohemeralmechanisms. *JclinEndocrinol Metab*, 84: 2140-2150.
- 28 - Sugino T, Hasegawa Y, Kurose Y, Kojima M, Kangawa K and Terashima Y, 2004, Effect of ghrelin on food intake and neuroendocrine function in sheep, *Anim. Reprod. Sci*. 82-83:183.
- 29 - Thamacaroen S, Lutz T.A., Geary N, Asavian L. 2006, Hindbrain estradiol implants inhibit feeding and increase NTS c-Fosimmunoreactivity in female rats, *Apetite*, 46:387.
- 30 - Tschop M, Smiley D.L., Heiman M.L., 2000, Ghrelin induces adiposity in rodents. *Nature*. 407: 908-13.
- 31 - Wren A.M., Small C.J., Ward H.L., Murphy K.G., Dakin C.L., Taheri S, Kennedy A.R., Roberts G.H., Morgan D.G., Ghatei M.A., Bloom S.R., 2001. The novel hypothalamic peptide ghrelin stimulates food intake and growth hormone secretion, *Endocrinology*. 141: 4325-4328.

The effect of Estradiol and growth hormone on mean plasma Ghrelin concentration in adult sheeps with food restriction

Behdadvand G.¹, Khazali H.¹ and Rokni H.²

¹ Faculty of Biological Sciences, Shahid Beheshti University, Tehran, I.R. of Iran

² Institute of Technical & Vocational Higher Education Agriculture, Tehran, I.R. of Iran

Abstrac

Ghrelin is an Orexigenic hormone that mainly secreted from human gastric cells. Estradiol has a negative effect on the secretion of these hormone. The goal of the present study was to investigate the effect of Estradiol and simultaneous injection of Estradiol and Growth hormone on mean Ghrelin concentration in Sheeps that are fed with either restricted or non restricted diets. In this study 10 sheep were randomly divided in two groups (n=5) and were fed either by restricted or non restricted diets for a week. Animals in both groups received Estradiol (2mg/kg) and simultaneous injection of Estradiol (2 mg/kg) and GH (0.1 mg/kg), on 7th and 8th day of the experiment respectively. Ghrelin concentration was determined by RIA. In the restricted group, Ghrelin concentrations increased significantly on the 7th of the experiment, compared to the 1st day ($p \leq 0.05$). While in the non restricted group, no significant change was observed. Estradiol significantly decreased Ghrelin levels after injection compared to before injection in both groups ($p \leq 0.05$). In both groups, simultaneous injection of Estradiol and GH increased Ghrelin concentration significantly. Food restriction lead to increases in levels of Ghrelin. Estradiol has a negative effect on Ghrelin secretion. Growth hormone exert a stimulatory effect on Ghrelin secretion and this effect is stronger than the reducing effect of Estradiol on Ghrelin concentration. However, the effect of 17- β -Estradiol with Growth hormone on mean plasma concentration of Ghrelin in Sheep has never been examined therefore.

Key words: Ghrelin, 17- β Estradiol, Growth hormone, Sheep