اثر 12 هفته تمرین هوازی بر غلظت گرلین و هورمون‌های انسولین، رشد و کورتیزول پلاسمایی و رابطه بین آنها در موش‌های نر

حسین عابد نظری[1]✉، مرضیه مزرعه خطیری[2]، سجاد احمدی زاد[1]

1-استادیار گروه تخصصی تربیت بدنی و علوم ورزشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران 2 - کارشناس ارشد تربیت بدنی و علوم ورزشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران 3- دانشیار گروه فیزیولوژی ورزشی دانشکده تربیت بدنی دانشگاه شهید بهشتی تهران

تاریخ دریافت مقاله 92/07/02 **تاریخ پذیرش مقاله 92/07/21**

چکیده:

هدف: هدف این پژوهش تعیین تغییرات گرلین پلاسما به دنبال12 هفته تمرین هوازی با شدت متوسط در موش‌های نر صحرایی و همچنین بررسی ارتباط بین تغییرات گرلین تام پلاسما با تغییرات هورمون‌های انسولین، رشد وکورتیزول بود. **روش‌ها:** برای انجام این تحقیق تعداد 20 سر موش به دو گروه کنترل(**n=9**) و تمرین(**n=11**) تقسیم شدند. موش‌های گروه تمرین به مدت 12 هفته، یک برنامه تمرین استقامتی با شدت متوسط دویدن روی نوارگردان بدون شیب (به مدت 60 دقیقه با سرعت 25 m/min معادل 65%Vo_2max برای 5 جلسه در هفته) را اجرا نمودند. بعد از اتمام دوره تمرین و به فاصله 48 ساعت پس از آخرین جلسه تمرین نمونه‌های خون جمع آوری شد و برای اندازه‌گیری گرلین، گلوکز، انسولین، هورمون رشد و کورتیزول تحلیل شدند. داده‌های دو گروه با استفاده از **t** مستقل مقایسه شدند. **نتایج:** سطوح گرلین پلاسما در گروه کنترل 86/68±25/85 پیکوگرم بر میلی‌لیتر بود.این مقدار درگروه تمرین به مقدار59/72±5/41 پیکوگرم بر میلی‌لیتر کاهش داشت و از نظر آماری معنی‌دار بود (**P**<0/0001 و **t** = 6/9). با این حال، 12 هفته تمرین استقامتی تاثیر معنی‌داری بر وزن موش‌ها (t=0 /258، p=0/80) سطوح گلوکز(p=0/262 ،t=1/15)، انسولین(p=0/1 , t=1/73) و هورمون رشد(t= -1/75, p=0/97) وکورتیزول (t= -1/82,p=0/084) نداشت .نتایج ضریب همبستگی نیز ارتباط معنی داری را بین گرلین وگلوکز، انسولین، هورمون رشد وکورتیزول نشان نداد (**p**>0/05). **بحث و نتیجه‌گیری** : نتیجه پژوهش حاضر نشان داد که 12 هفته دویدن بر روی نوارگردان با شدت متوسط منجر به کاهش معنی‌دار سطوح پلاسمایی گرلین در موش‌های نر صحرایی شد و تاثیر معنی‌داری بر سطوح متغیرهای دیگر و رابطه بین آنها نشان نداد. می‌توان نتیجه گرفت تغییرات گرلین می‌تواند تابعی از عوامل دیگر مانند مدت و شدت تمرین و ناشتایی همراه با کاهش معنی‌دار وزن باشد و نیز تغییرات گرلین و هورمون رشد را می‌توان مستقل از هم دانست.

واژه‌های کلیدی: تمرین هوازی،گرلین، موش صحرایی ، گلوکز، انسولین ، هورمون رشد،کورتیزول

The effects of 12 weeks of aerobic exercise on plasma Ghrelin, Insulin, GH, Cortisol Hormones concentration in male rats

Abstract:

Abjectivs: The purpose of this study was to investigate the effects of 12 weeks of treadmill running with modrate intensities on plasma Ghrelin and Glucose, Insulin, GH, Cottisol Hormon concentrations and relationship between this variable in male rat. **Methods:** Towenty Wistar male rats were used and randomly divided into two groups, control (n=9) and training group (n=11).The training group were given exercise on a motor-driven treadmill (25m/min, 60min, and 5 days/weeks) for 12 weeks. Rats were sacrificed 48h after last training session.Plasma samples were collected, Ghrelin were meseared by ELISA and data were analyzed by T test, significance level was accepted at $P < 0.05$. **Results:** The resalts indicate that plasma Ghrelin concentration in control(86.68±25.85pg/l) and trained (59.72±5.41pg/l) group that significantly decreased(t=6.9,P=0.0001).Changes in weitgh (t=0.258,p=0.8) plasma glucose(t=1.15,p=0.262), insulin (t=1.73,p=0.1), GH(t=-1.75,p=0.97) and cortisol (t=1.82,p=0.084) levels were not significant.Pearson correlation between the grelin and glucose, insulin, GH and cortisol concentrations assessed were not significant (P>0.05).**Conclusion:**it is concluded that long term treadmill exercise was effective on plasma ghrelin that this changes and so changes of Insulin,GH and cortisol hormone can be related to time and intensity of training and time of fasting and rate of decrease of weight in exercise training.Also plasma ghrelin and GH concentration can be independent.

Keywords: Aerobic Exercise training, Ghrelin, Rat, Glucose, Insulin, GH hormone, Cortisol

✉ **نویسنده مسئول:** حسین عابد نظری E-Mail: a.abdi58@gmail.com

آدرس: تهران – شاهین شمالی(کبیری طامه) – خ بهار - خ امام حسین(ع) - بن بست کوه پایه - پلاک 20 – واحد 3- تلفن: 021-44456385

مقدمه :

چاقی منشأ بسیاری از بیماری‌ها از قبیل فشار خون، آترواسکلروز، دیابت نوع دو، انواع خاصی از سرطان و اختلالات گوارشی و تنفسی می‌باشد (1). تعادل یا هموستاز انرژی مستقیماً با بقاء و سلامت ارگانیسم در ارتباط می‌باشد (2). با کشف گرلین در دستگاه گوارش به خصوص از مخاط فوندوس معده توسط کوجی ما و همکاران(1999) و اثبات اثر اشتها آوری آن، نقش دستگاه گوارش نیز در تعادل انرژی پررنگ، و معده به عنوان یک اندام موثر در تعادل انرژی شناخته شد. یافته‌ها نشان داده‌اند که گرلین به شرایط انرژی منفی حساس است و نقش قابل توجهی در تعادل کوتاه مدت و بلند مدت انرژی و همچنین هموستاز گلوکز ایفا می‌کند. یافته‌های پژوهشی نشان می‌دهد بیان ژن گرلین در معده هنگام ناشتایی افزایش و هنگام سیری کاهش می‌یابد. در واقع سطح پلاسمایی گرلین در شرایط تعادل انرژی مثبت، کاهش و در شرایط تعادل انرژی منفی، افزایش پیدا می‌کند. با توجه به اثر گرلین در کنترل وزن و اشتها، سطح این پپتید تحت تاثیر ورزش قرارگرفته و باعث تغییر اشتها و وزن می‌شود (3-6).

از سوی دیگر بررسی‌ها نشان می‌دهد که سطح گرلین پلاسما می‌تواند به وسیله‌ی هورمون‌هایی از جمله انسولین و متابولیت‌هایی مانند گلوکز تنظیم شود. در واقع مشاهده شده کاهش انسولین در حالت ناشتا سبب افزایش ترشح گرلین می‌شود و بلافاصله بعد ازغذا خوردن نیز، انسولین ترشح شده موجب سرکوب ترشح گرلین می‌شود (7). بورگلیو و همکاران (2003) نیز بیان کردند که پیام‌های سیری مانند گلوکز و انسولین موجب کاهش و مهار گرلین می‌شوند، بنابراین کاهش این پیام‌ها در اثر تمرین طولانی و ناشتایی، اثر مهاری آن‌ها را حذف و زمینه را برای افزایش سطح گرلین فراهم می‌سازند (8).

در مورد گرلین و فعالیت‌بدنی نیز تحقیقات چندی روی نمونه‌های انسانی و حیوانی انجام شده که بیشتر تحقیقات روی آزمودنی‌های چاق یا دیابتی و یا در وضعیت ناشتایی انجام شده. در پژوهش‌هایی که به بررسی اثر فعالیت‌بدنی برتغییرات سطوح گرلین پلاسمایی پرداخته‌اند، نتایج متناقضی در خصوص گرلین پلاسمائی بدست آمده است. در برخی از تحقیقات میزان گرلین پلاسمایی افزایش (9-12) و در برخی دیگر کاهش یافته است (13). یافته‌های تحقیقات گذشته غالبا پاسخ گرلین را به یک جلسه فعالیت مورد ارزیابی قرار داده‌اند (14،12،11). همچنین اطلاعات بسیار کمی درباره تاثیریک دوره تمرین (کوتاه یا طولانی مدت) بر سطوح گرلین در انسان‌ها (16،15،11) و حیوانات (9) موجود است. هورمون‌های رشد و کورتیزول نیز از هورمون‌های افزایش دهنده گلوکز و تنظیم کننده قند خون می‌باشند با توجه به نقش هورمون رشد در افزایش متابولیسم گلوکز و هورمون کورتیزول به عنوان هورمون استرس که هر دو متعاقب انجام فعالیت‌های ورزشی افزایش می‌یابند، در این پژوهش نیز سطوح این هورمون‌ها اندازه گیری شد.عمل اصلی GH عبارت از افزایش غلظت اسیدهای چرب آزاد خون و مهار برداشت گلوکز از سوی بافت‌های محیطی می‌باشد تا سطوح گلوکز خون ثابت بماند. نام گرلین از اثر تحریکی‌اش بر ترشح GH مشتق می‌شود. گرلین ترشح هورمون GH را از سلول‌های اصلی هیپوفیز تحریک نموده به گونه‌ای که نشان داده شده است که گرلین می‌تواند مستقیماً روی سلول‌های هیپوفیز اثر بگذارد. این در حالی است که درگیر شدن هیپوتالاموس در فرآیند فوق (آزاد شدن هورمون GH از هیپوفیز توسط تحریک هورمون گرلین) قویاً پیشنهاد شده است(10).

لذا پژوهش حاضر قصد دارد تا تأثیر12 هفته تمرین هوازی با شدت متوسط را برگرلین (پپتاید اشتهاآور) و عوامل هورمونی مرتبط مانند انسولین ، هورمون رشد و کورتیزول مطالعه کرده و همچنین به این پرسش پاسخ دهد که آیا تغییرات احتمالی گرلین متعاقب تمرین ورزشی ارتباطی با تغییرات عوامل متابولیکی (گلوکز) و هورمونی مانند انسولین و هورمون رشد و کورتیزول دارد؟

روش‌شناسی پژوهش :

نمونه‌های پژوهش: این پژوهش از نوع تجربی بود. جامعه پژوهش از بین موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار انستیتو پاستور ایران تعداد 20 سر موش 5 هفته‌ای و با وزن 20±120 گرم بطور تصادفی انتخاب شد. موش‌ها برای مدت 4 هفته در آزمایشگاه حیوانات دانشگاه تربیت مدرس نگهداری شدند. موش‌ها ضمن سازگاری با محیط برای شروع برنامه تمرینی به وزن (20 ±200) رسیدند و به طور تصادفی به دو گروه کنترل(n=9) و تمرین

(n=11) تقسیم شدند. مجوز اخلاق نیز از کمیته اخلاق دانشگاه تربیت مدرس اخذ شد.

پروتکل پژوهش: موش‌های گروه تمرین به مدت12 هفته، هر هفته 5 روز متوالی و هر روز یک جلسه (60 دقیقه) با شدت 25 متر در دقیقه که تقریباً معادل 65 درصد حداکثر اکسیژن مصرفی (VO_2max) می‌باشد به تمرین پرداختند. گروه کنترل نیز 10 دقیقه در روز و هفته‌ای سه جلسه بر روی تردمیل با سرعت 10 متر در دقیقه راه رفتند. طول دوره تمرینی 12 هفته بوده که به سه مرحله متوالی تقسیم شد.

مرحله اول: آشنایی یا خوگیری[1] با شرایط آزمایشگاه، تردمیل و دستکاری[2] (هفته اول). در این مرحله موش‌ها به مدت یک هفته هر روز به مدت 15-10 دقیقه با سرعت10 متر در دقیقه بر روی تردمیل راه رفتند (۱۸،۱۷).

مرحله دوم: مرحله اضافه‌بار[3] (هفته دوم و سوم): در این مرحله موش‌ها با شدت 12 متر در دقیقه و به مدت 15 دقیقه در روز روی تردمیل دویدند. به تدریج و در مدت 2 هفته شدت فعالیت به 25 متر در دقیقه و زمان فعالیت به 60 دقیقه در روز افزایش یافت. ضمنا از مجموع زمان فعالیت،20 دقیقه جهت گرم کردن و سرد کردن (هر کدام 10 دقیقه) اختصاص یافت.

مرحله سوم: مرحله حفظ یا تثبیت[4] (هفته چهارم تا دوازدهم): که طی آن موش‌ها تا پایان 12 هفته با شدت 25 متر در دقیقه و به مدت 60 دقیقه در روز بر روی تردمیل دویدند (۱۸،۱۷).

وزن موش‌ها در ابتدای ورود به برنامه تحقیق و یک روز در میان و همچنین در انتهای برنامه تحقیق پس از بیهوشی با استفاده از ترازوی دیجیتالی با حساسیت 0/01 گرم اندازه گیری شد.

نگهداری و تغذیه موش‌ها: موش‌ها در آزمایشگاه حیوانات دانشکده پزشکی دانشگاه تربیت مدرس در اتاقی به ابعاد 1/60 در 2/20 متر در شرایط کنترل شده نور (12 ساعت روشنایی و 12 ساعت تاریکی، شروع روشنایی 6 صبح و شروع خاموشی 6 عصر)، دما (1/4±22 سانتی گراد)، و رطوبت (حدود4± 55/6 درصد) نگهداری شدند. تعداد سه تا پنج عدد موش در قفس‌هایی از جنس پلکسی گلاس با درب توری و به ابعاد 25 در 27 در 43 سانتی‌متر نگهداری شدند. موش‌ها آزادانه به آب و غذای استاندارد دسترسی داشتند. در سرتاسر دوره تحقیق موش‌ها توسط یک نفر جابجا و دستکاری شدند. زمانی که موش‌ها به وزن حدود220-180 گرم رسیدند، برنامه تمرینی اجرا شد.

روش بی‌هوش کردن و خونگیری از موش‌ها: پس از اتمام دوره 12 هفته‌ای تمرین، 48 ساعت پس از آخرین جلسه تمرینی موش‌ها ابتدا توسط تزریق داخل صفاقی مخلوط کتامین[5] و زایلوزین[6] بی‌هوش و سپس کشته شدند. نمونه های خون موش ها مستقیما از طریق قلب گرفته شد و در لوله‌های حاوی EDTA جمع آوری و سریعا با سرعت 3000 دور در دقیقه به مدت 10 دقیقه سانتریفیوژ گردید. سپس بلافاصله در نیتروژن مایع قرارداده شد و جهت اندازه‌گیری‌های بعدی به فریزر با دمای 80- منتقل گردید (۱۸،۱۷).

روش‌های آزمایشگاهی و اندازه‌گیری آنالیت‌ها :

گرلین با استفاده از روش الایزا (ELISA) و توسط کیت فونیکس فرانسوی با حساسیت 4 پیکوگرم بر میلی‌لیتر و ضریب تغییر 5/9% اندازه‌گیری شد. جهت اطمینان از نتایج، اندازه‌گیری‌ها دوبار انجام گرفت و میانگین دوبار گرفته شد.گلوکز با استفاده از روش کالریمتری آنزیمی (گلوکز اکسیداز)، توسط کیت ساخت ایران شرکت پارس آزمون با حساسیت 1 میلی‌گرم بر دسی‌لیتر و ضریب تغییر 1/2% اندازه‌گیری شد.انسولین با استفاده از کیت انسولین موش ساخت سوئد با روش الایزا (ELISA) و حساسیت 0/07 میلی‌گرم بر لیتر و ضریب تغییر 2/5% اندازه‌گیری شد. کورتیزول با استفاده از کیت ساخت کانادا به روش آنزیم ایمونواسی با حساسیت 0/4 میلی‌گرم بر دسی‌لیتر و ضریب تغییر 3% اندازه‌گیری شد. هورمون

[1]- Familiarization
[2]- Human handling
[3]- Overload
[4]- Establishment

[5]- Ketamin
[6]- Xaynozin

رشد(**GH**) با استفاده از کیت هورمون رشد موش ساخت آمریکا به روش الایزا (ELISA) با حساسیت 0/13 نانوگرم بر میلی‌لیتر و ضریب تغییر 8/9% اندازه‌گیری شد .

تحلیل آماری: برای تعیین توزیع طبیعی داده‌ها از آزمون کولموگروف- اسمیرنوف استفاده شد. برای مقایسه داده‌های دو گروه نیز از آزمون t مستقل استفاده شد. همبستگی بین متغیرها نیز با استفاده از ضریب همبستگی پیرسون تعیین گردید. برای تجزیه و تحلیل اطلاعات خام از نرم‌افزار SPSS18 و برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excle استفاده گردید.

نتایج:

یافته‌های پژوهش در جدول 1 خلاصه شده است.

جدول 1. میانگین متغیرها و شاخص‌های آماری مربوط به آنها درگروه کنترل و تمرین

متغیر	گروه	میانگین± انحراف استاندارد	درجه آزادی	t	sig
وزن(gr)	کنترل(n=9)	313/56±38/50	18	0/258	0/80
	تجربی (n=11)	309/82±26/21			
گلوکز (mg/dl)	کنترل(n=9)	280/22±12/53	18	1/15	0/262
	تجربی (n=11)	200/18±17/43			
انسولین (Pmol/L)	کنترل(n=9)	54/22±13/94	18	1/73	0/1
	تجربی (n=11)	41/80±17/34			
هورمون رشد (ng/ml)	کنترل(n=9)	84/71±39/45	18	-1/75	0/097
	تجربی (n=11)	110/05±24/80			
کورتیزول (mg/dl)	کنترل(n=9)	2/68±0/83	18	-1/82	0/084
	تجربی (n=11)	3/25±0/55			
گرلین پلاسما (pg/ml)	کنترل(n=9)	86/68±25/85	18	6/944	0/000 **
	تجربی (n=11)	59/72±5/41			

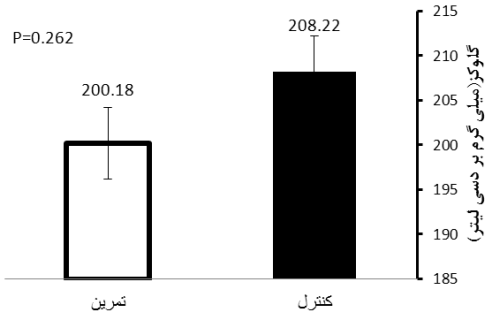
**p<0/01, * p<0/05

همانطور که در جدول و شکل1 نشان داده شده، سطوح گرلین پلاسما در گروه کنترل 86/68±25/85 پیکوگرم بر میلی لیتر بود. این مقدار درگروه تمرین 59/72±5/41 پیکو گرم بر میلی‌لیتر بود که نسبت به گروه کنترل کاهش داشت و این کاهش از نظر آماری معنی‌دار بود. (t= 6/944 , P <0/001). بنابراین تحلیل آماری داده‌ها نشان داد که تمرین بر غلظت گرلین پلاسما تاثیر داشته و آن را بطور معنی‌داری کاهش داده است.

شکل 1) میانگین غلظت گرلین پلاسما (پیکوگرم بر میلی‌لیتر) در گروه کنترل و تمرین‌کرده

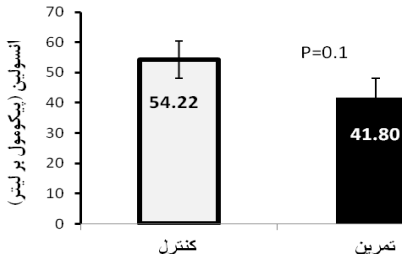
همچنین با ملاحظه جدول 1 موارد ذیل مشاهده می شود:

مقدار غلظتی گلوکز پلاسما در گروه کنترل 12/53± 208/22 میلی‌گرم بر دسی لیتر بود که این مقدار در گروه تمرین 17/43±200/18 میلی گرم بر دسی لیتر بود و نسبت به گروه کنترل کاهش داشت اما این کاهش از نظر آماری معنی‌دار نبود. (t=1/15 , p=0/262).



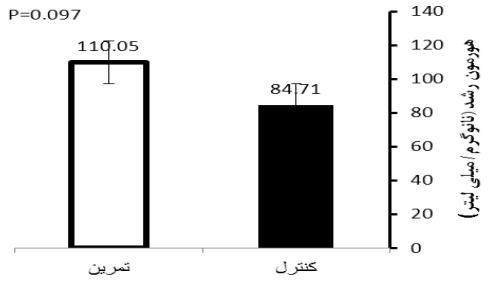
شکل 2) میانگین غلظت گلوکز پلاسما (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) در گروه کنترل و تمرین‌کرده

مقدار غلظتی انسولین پلاسما در گروه کنترل13/94 ± 54/22 پیکومول بر لیتر بود که این مقدار در گروه تمرین 17/34 ±41/80 پیکومول بر لیتر بود و نسبت به گروه کنترل کاهش داشت اما این کاهش از نظر آماری معنی‌دار نبود (t=1/73 , p=0/1).



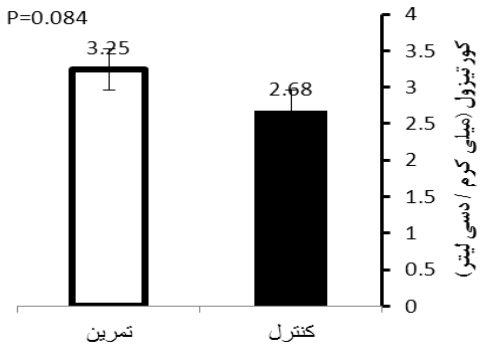
شکل 3) میانگین غلظت انسولین پلاسما (پیکو مول بر لیتر) در گروه کنترل و تمرین‌کرده

مقدار غلظتی هورمون رشد در گروه کنترل 39/45 ±84/71 نانوگرم بر میلی‌لیتر بود که این مقدار در گروه تمرین24/80 ± 110/05 نانوگرم بر میلی لیتر بود و نسبت به گروه کنترل افزایش داشت اما این افزایش از نظر آماری معنی‌دار نبود. (t= -1/75 , p=0/97) .



شکل4) میانگین غلظت هورمون رشد پلاسما (نانوگرم بر میلی‌لیتر) در گروه کنترل و تمرین‌کرده

مقدار غلظتی هورمون کورتیزول در گروه کنترل0/83 ± 2/68 میلی گرم بر دسی لیتر بود که این مقدار در گروه تمرین0/55 ± 3/25 میلی‌گرم بر دسی لیتر بود و نسبت به گروه کنترل افزایش داشت اما این افزایش از نظر آماری معنی‌دار نبود. (t= -1/82 , p=0/084)



شکل5) میانگین غلظت هورمون کورتیزول پلاسما (میلی گرم بر دسی لیتر) در گروه کنترل و تمرین‌کرده

نتایج ضریب همبستگی پیرسون نیز ارتباط معنی‌داری را بین گرلین و گلوکز (**r** = /405، p=0/217) و گرلین و انسولین(**r** = -0/255، p=0/450) ، گرلین و هورمون رشد (**r** = -0/318، p=0/340) وگرلین و کورتیزول (p=0/900 **r** = 0/043،) نشان نداد.

جدول2. نتایج همبستگی بین گرلین و سایر متغیرها

متغییرها		گرلین پلاسما
وزن (n=11)	ضریب همبستگی(r)	-0/123
	معنی داری(sig)	0/718
گلوکز (n=11)	ضریب همبستگی(r)	0/405
	معنی‌داری(sig)	0/217
انسولین (n=11)	ضریب همبستگی(r)	-0/255
	معنی داری(sig)	0/450
هورمون رشد (n=11)	ضریب همبستگی(r)	-0/318
	معنی‌داری(sig)	0/340
هورمون کورتیزول (n=11)	ضریب همبستگی(r)	0/043
	معنی‌داری(sig)	0/900

بحث و نتیجه گیری :

در پژوهش حاضر با مشاهده جدول و شکل1 ملاحظه می‌شود که انجام تمرین هوازی با شدت متوسط توسط موش‌های نر صحرایی بر غلظت گرلین پلاسما تاثیر داشت و آن را بطور معنی‌داری کاهش داد.

اثر انواع متفاوتی از تمرین بدنی روی پاسخ‌های گرلین تام وآسیل‌دار در پلاسما و مغز هم در انسان (16) و هم در موش (20-۱۷،۱۱،۹) بررسی شده است و نتایج متناقضی بدست آمده است. برخی تحقیقات افزایش معنی‌دار سطح گرلین پلاسما متعاقب تمرین (۲۱،۱۶،۱۵،۱۲،۱۰،۹)، برخی دیگر نیز کاهش سطوح گرلین (۱۶،۱۳،۱۲) را گزارش کرده‌اند در حالیکه بعضی‌ها نیز عدم تغییر آن را گزارش کرده‌اند (13،12). در رابطه با اثر تمرین بر گرلین پلاسمایی یافته‌های تحقیق حاضر با برخی گزارشات قبلی (۱۱-۲۰،۱۳) همسو است و با برخی دیگر مطابقت ندارد (۱۶،۱۵،۹). یافته‌ها نشان می‌دهند گرلین به شرایط انرژی منفی حساس است و نقش قابل توجهی در تعادل کوتاه مدت و بلند مدت انرژی و همچنین هموستاز گلوکز ایفا می‌کند (22). تحقیقات نشان داده‌اند که بیان ژن گرلین در معده هنگام ناشتایی افزایش و هنگام سیری کاهش می‌یابد یعنی سطح پلاسمایی گرلین در شرایط تعادل انرژی مثبت، کاهش و در شرایط تعادل انرژی منفی، افزایش پیدا می‌کند (25-23).

در پژوهش‌های مختلف یافته‌های متفاوتی درباره‌ی اثر ورزش بر سطح گرلین در پلاسما و بافت‌های مختلف گزارش شده است. برخی بررسی‌ها نشان داده‌اند کاهش وزن ناشی از تمرین و به دنبال آن کاهش شاخص توده بدن

(BMI) می‌تواند سطح پلاسمایی گرلین را تغییر دهد (۲۶،۱۶،۱۴). در واقع، تمرین های ورزشی ممکن است موجب تعادل منفی انرژی و به دنبال آن ایجاد تغییر در سطح پلاسمایی و سطح بافتی گرلین شوند.در بررسی‌های هورمونی و متابولیکی هنوز پرسش‌های فراوانی در مورد تغییرات سطح گرلین به عنوان یکی از عوامل موثر بر تعادل انرژی، در اثر انجام تمرین‌های ورزشی وجود دارد، هم چنین تاثیر کاهش وزن ناشی از تمرین‌های ورزشی بر سطح پلاسمایی گرلین نیز نیازمند بررسی‌های بیشتری است. پژوهشگران این فرضیه را پیشنهاد نمودند که گرلین در تنظیم یک حلقه‌ی بازخورد منفی شرکت دارد و این حلقه تنظیم کننده‌ی وزن بدن است، در واقع کاهش وزن بدن موجب افزایش سطح گرلین خون می‌شود که به عنوان بخشی از سازگاری‌ها نسبت به کمبود انرژی شناخته شده است. لیدی و همکاران (2004) نیز اثر ترکیبی تمرین و مداخله رژیم غذایی بر سطح گرلین تام پلاسمایی را در زنان با وزن طبیعی اندازه‌گیری نمودند (16). یافته‌ها نشان داد سطح گرلین در گروه کاهش وزن ناشی از تمرین در مقایسه با افرادی که وزن ثابتی داشتند، افزایش معنی‌داری یافت، هم چنین رابطه‌ی معکوس معنی‌داری بین سطح گرلین وتغییرات وزن مشاهده شد که نشان دهنده حساسیت ویژه گرلین به تغییرات وزن می‌باشد.کریمر و همکاران (2007) در مطالعه مروری خود تاثیر انواع تمرین‌های ورزشی برگرلین را بررسی نمودند و اظهار نمودند که کاهش وزن ناشی از انجام تمرین‌های ورزشی، سطح گرلین خون را افزایش می‌دهد، هم چنین سطح آن در افرادی که توسط انجام تمرین‌های ورزشی، کاهش وزن بیشتری دارند، نسبت به گروه‌هایی که کاهش وزن کمتری داشتند، بالاتر بود(14). به طور کلی بیشتر بررسی‌ها عنوان کرده‌اند، انجام تمرین های طولانی مدت در صورتی سبب افزایش سطح گرلین پلاسما می شود که کاهش وزن اتفاق افتاده باشد (۱۷،۱۴) از سوی دیگر مورپورگو و همکاران (2003) گزارش کردند 5% کاهش وزن به دنبال 3 هفته فعالیت ورزشی همراه با محدود کردن رژیم غذایی در آزمودنی‌های چاق برای ایجاد تغییر در سطح گرلین تام پلاسما کافی نیست. بنابراین به نظر می‌رسد گرلین به تغییرات وزن بدن بسیار حساس است و افزایش گرلین یک رفتار جبرانی در پاسخ به کاهش وزن می باشد. به عبارت دیگر افزایش گرلین ممکن است به عنوان یک سازوکار جبرانی برای بازگرداندن وزن بدن به یک نقطه‌ی تنظیم شده عمل نماید(21). به عبارت دیگر، مدت برنامه‌ی تمرین و میزان کاهش وزن ناشی از آن نیز می تواند در تغییرات سطح گرلین به دنبال تمرین تاثیرگذار باشد (28).

در پژوهش حاضر سعی شد طول دوره تمرینی تا حد امکان طولانی در نظر گرفته شود، اما با وجود این، طول مدت برنامه‌ی تمرین و حجم و شدت تمرین عوامل دیگری هستند که می‌توانند در مورد کاهش معنی‌دار گرلین به آن توجه نمود و نتایج دوره‌های طولانی‌تر از این و حجم‌ها و شدت‌های بالاتر هم می‌تواند مطالعه شود. از موارد قابل توجه دیگر این است که در بیشتر بررسی‌های عنوان شده، نمونه‌گیری از آزمودنی‌ها در حالت ناشتا انجام شده است و برخی بررسی‌ها گزارش نموده‌اند سطح گرلین پلاسمایی در حالت ناشتا به طور تقریبی دوبرابر افزایش می‌یابد (23). ناشتایی یکی از عوامل موثر در ایجاد تعادل منفی انرژی است که می‌تواند منجر به تحریک پپتیدهای اشتهاآوری مانند گرلین شود (۲۹،۲۴)، بنابراین به نظر می‌رسد ناشتایی هنگام نمونه‌گیری، ممکن است سازگاری‌های به دست آمده از تمرین را مورد تاثیر قراردهد. در این پژوهش برای کنترل اثر ناشتایی که سبب افزایش ترشح گرلین می‌شود، آزمودنی‌ها 4 ساعت قبل از نمونه‌گیری ناشتا شدند و فقط آب در اختیار آنها بود. بنابراین می توان تا حدود زیادی اطمینان داد که آنچه مشاهده شده اثرات انجام خود تمرین هوازی بوده است. از سوی دیگر، این نکته نیز قابل توجه است که در این بررسی سطح گرلین تام پلاسما اندازه‌گیری شده، بنابراین با وجود این که درسطح گرلین تام پلاسما با برنامه‌ی تمرین هوازی طولانی مدت تغییر معنی‌دار مشاهده شد، احتمال دارد سطح گرلین آسیل‌دار یا نسبت گرلین آسیل‌دار به گرلین بدون آسیل نیز تغییر کرده باشد. فتحی و همکاران (1386) نشان دادند، یکدوره تمرین هوازی روی نوارگردان با شدت متوسط و شدید، به افزایش معنی‌دار سطح گرلین آسیل‌دار پلاسما در موش‌های صحرایی منجر شد که این افزایش در تمرینات شدید بیشتر بود. بنابراین با افزایش شدت تمرین احتمالا نتایج متفاوتی بدست خواهد آمد که البته این پژوهش از نظر دوره تمرین و شدت و اندازه‌گیری کردن گرلین آسیل‌دار و عدم اندازه گیری هورمون‌های دیگر با پژوهش حاضر تفاوت‌هایی دارد. (9) و به اندازه‌گیری‌های گرلین تام و گرلین آسیل‌دار و یا بدون آسیل نیز بایستی

توجه کرد. هم چنین پژوهش میرزایی و همکاران (2009) روی زنان چاق نشان داد، با وجودی که وزن آزمودنی‌ها پس از 8 هفته برنامه‌ی تمرین هوازی به طور معنی‌داری تغییر نکرد، اما سطح گرلین بدون آسیل افزایش معنی‌داری یافت و سطح گرلین آسیل‌دار نیز فقط در آزمودنی‌هایی که کاهش وزن داشتند، 15 % افزایش یافت و در سایر آزمودنی‌ها بدون تغییر باقی ماند. بنابراین ممکن است مدت برنامه‌ی تمرین یا میزان کاهش وزن عامل بسیار مهمی در ایجاد تغییر در سطح گرلین آسیل‌دار باشد (30)

در مورد تغییرات GH و ارتباط آن با گرلین، نتایج تحقیق حاضر نیز نشان می‌دهد علیرغم افزایش غیرمعنی‌دار سطوح GH در اثر تمرین 12 هفته‌ای سطوح گرلین بطور معنی‌داری کاهش یافته است. نتایج ضریب همبستگی نیز ارتباط غیر معنی‌داری را بین تغییرات گرلین و GH را نشان داد. عمل اصلی GH عبارت از افزایش غلظت اسیدهای چرب آزاد خون و مهار برداشت گلوکز از سوی بافت‌های محیطی می‌باشد تا سطوح گلوکز خون ثابت بماند. نشان داده شده که GH تظاهر گرلین را در معده مهار می‌کند. به علاوه سطح گرلین گردش خون در موش‌های صحرایی با تزریق GH کاهش می‌یابد (33). تحقیقات مختلفی در زمینه ی تمرینات ورزشی مختلف بر ترشح GH، گرلین و دیگر هورمون‌های تنظیمی مسیرهای متابولیکی انجام شده و نتایج مختلفی به دست آمده ولی مطلبی که بین تمامی این تحقیقات مشترک است این موضوع می باشد که گرلین با عنوان هورمونی تصور شده که در تنظیم هموستازی انرژی طی فعالیتهای بدنی نقش مهمی ایفا می‌کند که می‌تواند در تعامل با هورمون‌های GH، لپتین، انسولین و ... عمل تنظیمی بر مواردی چون مسیرهای رشد سلولی (هایپرتروفی – آتروفی)، تنظیم قند خون طی فعالیت‌های ورزشی، اشتها، تنظیم وزن و .... داشته باشد. قنبری نیاکی و همکاران (2006) نیز کاهش معنی‌داری را در گرلین پلاسما در پاسخ به یک جلسه تمرین مقاومتی دایره‌ای مشاهده نمودند؛ بطوریکه GH پلاسما افزایش معنی‌داری داشت و پس از 24 ساعت ریکاوری که گرلین افزایش معنی‌داری یافت، GH به سطوح اولیه بازگشت و نتیجه‌آنها این بود که طرح وارونه‌ای در تغییرات GH و گرلین نسبت به هم وجود دارد که حاکی از عدم اثرگذاری آن‌ها بر هم است که با نتایج پژوهش حاضر نیز همخوانی دارد (11). دال و همکاران (2002) نیز چنین پیشنهاد کرده بودند که GH ممکن است رهایش گرلین را مهار کند. و چنین بیان کردند که تغییرات مربوط به GH و گرلین مستقل از هم می‌باشند که نتایج آنها هم با نتایج پژوهش حاضر همخونی دارد (10). همچنین کریمر و همکاران (2004) متعاقب یک جلسه تمرینات اکسنتریک و کانستریک عضلانی افزایش هورمون رشد و مهار سطوح گرلین را مشاهده نمودند و نتیجه‌گیری کلی این بود که مشابه با تحقیق حاضر هیچ ارتباطی بین کاهش گرلین وتغییرات GH متعاقب تمرینات وجود ندارد. همچنین بین افزایش GH با کاهش یا عدم تغییر معنی‌دارگرلین بر اثر تمرینات برونگرا و درونگرا ارتباطی گزارش نکردند (12). همچنین لیدی و همکاران (2004) نیز افزایش هورمون رشد طی تمرینات ورزشی مختلف یک ساله را یک پاسخ کلاسیک دانستند که ارتباطی به تغییرات سطوح پلاسمایی گرلین ندارد (16).

از طرفی نتایج پژوهش حاضر با گزارشات کوجیما و همکاران (1999)، آروات و همکاران (2001)، دیت و همکاران (b2002) و لازارزیک و همکاران (2003) ناهمسو می‌باشد (۳۵،۳۳،۶،۵،۳). اما همان‌طور که اشاره شد تحقیقات مذکور از نظر نوع تمرینات و جامعه آماری با تحقیق حاضر تفاوت دارند. لذا چنین می‌توان نتیجه گرفت که بر خلاف نتایج کوجی ما و همکاران (2005 و2001) و هوسودا و همکاران (2002)، تغییرات گرلین و GH را بایستی مستقل از هم دانست بلکه در ظاهر رابطه معکوسی بین GH وگرلین پلاسما وجود دارد(۶،۵). که این نتیجه در مورد ارتباط ببن گرلین و GH با نتایج تحقیقات قنبری نیاکی (2006)، کریمر (2002)، لیدی (2004)، دال (2002)، دیت (2002) در زمینه عدم ارتباط معنی‌دار بین گرلین و GH ونیز عدم تاثیر افزایشی آنها بر یکدیگر، هماهنگ می‌باشد (۳۲،۲۲،۱۶،۱۲-10). بنابراین با توجه به تحقیقات گذشته و شواهد موجود نمی‌توان تصور کرد که تغییرات گرلین ناشی از تغییرات GH باشد و یا بالعکس.

از سوی دیگر بررسی‌ها نشان می‌دهد که سطح گرلین پلاسما می‌تواند به وسیله‌ی هورمون‌هایی از جمله انسولین و متابولیت‌هایی مانند گلوکز تنظیم شود. در واقع مشاهده شده کاهش انسولین در حالت ناشتا سبب افزایش ترشح گرلین می‌شود و بلافاصله بعد از غذا خوردن نیز، انسولین

ترشح شده موجب سرکوب ترشح گرلین می‌شود (7). بورگلیو و همکاران (2003) نیز بیان کردند که پیام‌های سیری مانند گلوکز و انسولین موجب کاهش و مهار گرلین می‌شوند، بنابراین کاهش این پیام‌ها در اثر تمرین طولانی و ناشتایی، اثر مهاری آن‌ها را برداشته و زمینه را برای افزایش سطح گرلین فراهم می‌سازند (8). اما در پژوهش حاضر ضمن کاهش معنی‌دار گرلین متعاقب 12 هفته تمرین هوازی توسط موش‌های صحرایی، بین انسولین و گرلین پلاسما نیز ارتباط معنی‌داری مشاهده نشد. با توجه به نقش هورمون رشد در افزایش متابولیسم گلوکز و هورمون کورتیزول به عنوان هورمون استرس که هر دو متعاقب انجام فعالیت‌های ورزشی افزایش می‌یابند، در این پژوهش نیز سطوح این هورمون‌ها افزایش یافته که در موش‌های سازگار یافته با تمرین می‌تواند در متابولیسم گلوکز و شرایط فشار تمرین موثر باشد ولی شاید از آنجا که شدت انتخاب شده یک شدت متوسط بود و یا بدلیل حجم و طول مدت تمرین افزایش سطوح هورمون‌های فوق معنی‌دار نبوده بنابراین برای اظهار نظر دقیقتر در این مورد توصیه می‌شود بررسی‌های دیگری درخصوص اثر تمرین‌های قدرتی و استقامتی با حجم‌ها و شدت‌های مختلف و بر سطح گرلین پلاسما در کنار اندازه‌گیری مقاومت به انسولین و عوامل التهابی و هورمون‌های استرس منتخب انجام شوند تا اثر این نوع فعالیت‌ها بر مقاومت به انسولین با رویکرد مکانیسم‌های هورمونی بیشتر مشخص شود. به نظر می‌رسد عدم تغییر وزن آزمودنی‌ها در پایان برنامه‌ی تمرین، ناشتا نبودن آزمودنی‌ها هنگام نمونه‌گیری و کوتاه بودن مدت برنامه‌ی تمرین در بروز نتیجه‌ی یاد شده موثر می‌باشد؛ هرچند ممکن است زیرگروه‌های گرلین تام (گرلین آسیل‌دار و بدون آسیل) تغییرکرده باشد.

نتیجه گیری کلی و پیشنهادات برخاسته از پژوهش :

نتیجه پژوهش حاضر نشان داد که دویدن برروی نوارگردان با سرعت 25 متر بر دقیقه باعث کاهش معنی‌دار سطوح پلاسمایی گرلین موش‌های نر صحرایی شد. کاهش معنی‌دار گرلین در این پژوهش را می توان با عدم کاهش معنی‌دار وزن آزمودنی‌ها در طول برنامه‌ی تمرین و در نتیجه مدت و شدت تمرین، مرتبط دانست. ناشتایی یکی از عوامل موثر در ایجاد تعادل منفی انرژی است که می‌تواند منجر به تحریک پپتیدهای اشتهاآوری مانند گرلین شود و سازگاری‌های به دست آمده از تمرین را مورد تاثیر قرار دهد (۲۹،۲۴). با توجه به اینکه موش‌ها 4 ساعت قبل از کشته شدن در وضعیت سیری بودند و اثر ناشتایی کنترل گردید بنابراین می‌توان تغییرات مشاهده شده را به تاثیرات انجام تمرینات هوازی و سازگاری حاصل از تمرین نسبت داد. با توجه به اینکه از موش‌ها 48 ساعت پس از قطع تمرین آخرین جلسه نمونه‌گیری انجام شد، نتیجه چنین فرایندی می‌تواند به بازگشت به حال اولیه پس از تمرین منجر شده و می‌توان برای تحقیق بیشتر پیشنهاد کرد موش‌ها با فاصله زمانی بیشتری نمونه‌گیری شوند.

تشکر و قدردانی : از انیستیتو پاستور تهران و گروه تربیت بدنی و دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس و مرکز غدد و متابولیسم دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی تقدیر و تشکر بعمل می‌آید.

منابع:

1. Kopelman PG. (2002) .Obesity as a medical problem. Nature.404: 635–64
2. Hillebrand JJG, de Wied D, & Adan RAH. (2002). Neuropeptides, food intake and body weight regulation: a hypothalamic focus. Peptides, 23: 2283–2306
3. Kojima M, H. Hosoda, Y. Date, and et.al (1999).Ghrelin is a growth hormone releasing acylated peptide from stomach, Nature 402.656–660.
4. Kojima M, Hosoda H, Kangawa K.and et.al (2001). Purification and distribution of ghrelin: the natural endogenous ligand for the growth hormone secretagogue receptor. Horm Res; 56 Suppl 1:93-7.
5. Kojima M, Hosoda H, Matsuo H, Kangawa K.and et.al (2001). Ghrelin: discovery of the natural endogenous ligand for the growth hormone secretagogue receptor. Trends Endocrinol Metab, 12(3):118-22.
6. Kojima M., Kangawa K. (2008); Structure and function of ghrelin. Results, Probl Cell Differ. 46: 89-115.
7. Revollo JR, Korner A, Mills KF, and et al. (2002) “Insulin regulates plasma ghrelin concentration”.J Clin Endocrinol Metab; 87: 3997-4000.
8. Broglio F, Benso A, Castiglioni C, and et al. (2003) “The endocrine response to ghrelin as a function of gender in humans in young and elderly subjects”. J Clin Endocrinol Metab; 88:1537-42.
9. Fathi R, Ghanbari-Niaki A, Rahbarizadeh F, and et.al (2009).The effect of exercise on plasma acylated ghrelin concentrations and

running rats". Journal of Molecular Endocrinology.35, 381–390.
21. De Souza MJ, Leidy HJ, O'Donnell E, Lasley B, Williams NI,(2004).Fasting ghrelin levels in physically active women: relationship with menstrual disturbances and metabolic hormones. J Clin Endocrinol Metab; 89(7):3536-42.
22. Ghanbari-Niaki A, Soltani R, Shemshaki A, and Kraemer RR.(2010).Effects of acute ethionine injection on Plasma ghrelin and Obestatin levels in trained male rats.Metabolism; 59: 982-7.
23. Klok MD, Jakobsdottir S, Drent ML. (2007).The role of leptin and ghrelin in the regulation of food intake and body weight in humans: a review. Obes Rev; 8: 21-34.
24. Tschop M, Smiley DL, Heiman ML. (2000)."Ghrelin induces adiposity in rodents". Nature; 407(6806):908-13.
25. van der Lely AJ, Tschop M, Heiman ML, Ghigo E.(2004) Biological, physiological, pathophysiological, and pharmacological aspects of ghrelin. Endocr Rev; 25:426- 57.
26. Erdmann J, Tahbaz R, Lippl F, Wagenpfeil S, Schusdziarra V. (2007). Plasma ghrelin levels during exercise – effects of intensity and duration. Regul Pept; 143: 127-35.
27. Mager U, Kolehmainen M, de Mello VD, Schwab and et.al (2008) Expression of ghrelin gene in peripheral blood mononuclear cells and plasma ghrelin concentrations in patients with metabolic syndrome. Eur J Endocrinol; 158:499–510.
28. Morpurgo PS, Resnik M, Agosti F, and et.al (2003). Ghrelin secretion in severely obese subjects before and after a 3-week integrated body mass reduction program. J Endocrinol Invest; 26: 723-7.
29. Yildiz BO, Suchard MA, Wong ML, and et.al (2004.)Alterations in the dynamics of circulating ghrelin, adiponectin, and leptin in human obesity. Proc Natl Acad Sci U S A; 101: 10434-9.
30. Mirzaei B, Irandoust K, Rahmani-Nia F, Mohebbi H,Hassan-Nia S.(2009)Un acylated ghrelin levels increase after aerobic exercise program in obese women. Brazilian Jouranal of Biomotricity; 3: 11-20.
31. Date Y, Murakami N, Kojimi M, and et al. (2000) "Central effects of a novel acylated peptide, ghrelin, on growth hormone release in rate". Biochem Biophys Res Commun 275.
32. . Date Y, Nakazato M, Hashguchi S, et al. (2002). "Ghrelin is present in pancreatic alpha-cells of human and rat stimulates insulin secretion". Diabetes;51:124–9
33. Lazarczyk MA, Lazarczyk M, & Grzela T. (2003).Ghrelin: a recently discovered gut – gastrocnemius muscle mRNA expression in male rats. Iranian Journal of Endocrinology and Metabolism; 10:519-26.[Farsi]
10. Dall R, Kanaley J, Hansen TK, et al. (2002).Plasma ghrelin levels during exercise in healthy subjects and in growth hormone-deficient patients. Eur J Endocrinol; 147:65–70.
11. Ghanbari-Niaki A: (2006).Ghrelin and glucoregulatory hormone responses to a single circuit resistance exercise in male college students.Clin Biochem; 39: 966–970.
12. Kraemer RR, Durand RJ, Hollander DB, and et.al(2004).Ghrelin and other glucoregulatory hormone responses to eccentric and concentric muscle contractions. Endocrine; 24: 93–98.
13. Schmidt A, Maier C, Schaller G, et al. (2004). Acute exercise has no effect on ghrelin plasma concentrations. Hormone Metabolism Research; 36:174–7
14. Kraemer RR, Castracane VD. (2007).Exercise and humoral mediators of peripheral energy balance: ghrelin and adiponectin (minireview).Exp Biol Med (Maywood); 232: 184-94.
15. Foster – Schubert KE, McTiernan A, Frayo RS, and et.al (2005)." Human plasma ghrelin levels increase during a one – year exercise program". Journal clinical Endocrinol Metab, 90: 820–825.
16. leidy HJ,Gardner JK, Frye BR,Snook and et.al(2004).Circulating ghrelin is sensitive to changes in body weight during a diet and exercise programin normal-weight young women.J Clin Endocrinol Metab;89(6):2659-64.
17. Ghanbari-Niaki A, Abednazari H, Tayebi SM, Hossaini-Kakhak A, Kraemer RR. (2009) Treadmill training enhances rat agouti-related protein in plasma and reduces ghrelin levels in plasma and soleus muscle. Metabolism; 58: 1747-52.
18. Ghanbari-Niaki, Abednazari H, kraemer (2010). "Time-course alterations of plasma and soleus agouti-related peptide and relationship to ATP, glycogen, cortisol, and insulin concentrations following treadmill training programs in male rats. Horm Metab Res. 2011 Feb; 43(2):112-6.
19. Andersson U, Treebak JT, Nielsen JN, et.al(2005).Exercise in rats does not alter hypothalamic AMP-activated protein kinase activity.Biochem Biophys Res Commun.8;329(2):719-25.
20. Rijke C E de, J J G Hillebrand, L A W Verhagen, et.al (2005) "Hypothalamic neuropeptide expression following chronic food restriction in sedentary and wheel-

brain peptide (Review). Int. J. Molecular Medicine, 12: 279 – 787.

34. Hosoda H, Kojima M, Kangawa K. (2002). Ghrelin and the regulation of food intake and energy balance. Mol Interv; 2(8):494-503.
35. Arvat E, Maccario M, Di Vito L, Broglio F, and et.al (2001). Endocrine activities of ghrelin, a natural growth hormone secretagogue (GHS), in humans: comparison and interactions with hexarelin, a nonnatural peptidyl GHS, and GH-releasing hormone. Journal Clinical Endocrinology Metabolism.