

بررسی اثرات تزریق گرلین بر تغییرات غلظت سرمی اوره و کراتینین موش های صحرایی در شرایط اندوتوکسمی

جواد چراغی^{۱*}، غلامحسین واعظی^۲، احسان عبداللهی پور^۳

۱- استاد یار گروه علوم پایه آموزشکده دامپزشکی دانشگاه ایلام، ایلام - ایران.
۲- دانشیار گروه علوم پایه دانشگاه آزاد اسلامی واحد سمنان، سمنان - ایران.
۳- دانش آموخته دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرمسار، گرمسار - ایران.
* نویسنده مسئول: eilam-accopnting9@rose-net.co.ir

دریافت مقاله: ۲۲ تیر ۸۸ پذیرش نهایی: ۲۹ دی ۸۸

Study on the Injection of Ghrelin on the Serum Urea and Creatinine Concentration in Rats Exposed to Endotoxemia Condition

Cheraghi, J.^{1*}, Vaezi, GH.², Abdollahi Poor, E.³

¹Assistant Professor of Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Ilam University, Ilam - Iran.

²Associate Professor of Department of Basic Sciences, Islamic Azad University, Semnan Branch, Semnan- Iran.

³Graduated from Faculty of Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Garmsar Branch, Garmsar- Iran.

Abstract

In this research it is mostly paid attention to the effect of physiologically ghrelin and the role of Ghrelin in renal function which is the result of bacterial lipopolysaccharids (LPS) in rats. The number of 70 rats which have divided in 7 group for the experiment. firstly rats were IP injection of (LPS) by the amount of 20mg/kg B.W induced endotoxemia effects. Moreover Ghrelin by the amount of 4nmol befor and after the injection of LPS which is done by injection IP method. The result clearly illustrate that injection of Ghrelin could prevention the effects of LPS in renal function. In fact, with compared that of indicator group, the injection of two dose Ghrelin befor and after the injection of LPS leads to the deacrese significantly in the serum Creatinine concentration and also the injection of one dose Ghrelin before and 5 dose after the injection of LPS due to the reduce considerably in the serum Urea concentration ($P < 0/05$). It would appear from the result that treatment with Ghrelin could correct the abnormalities of situation renal nephrotoxicity in endotoxemia with reduce the level of Urea and Creatinine concentration in blood serum. *Vet. Res. Bull.* 6,1: 37-43,2010.

Keywords: Ghrelin , Urea , Creatinine , Endotoxemia , Rat.

چکیده

گرلین لیپوپپتیدی است که اولین بار از معده رت جدا شد و مهمترین نقش آن ترشح GH از طریق رسپتور GHS-R می باشد که با توجه به گستردگی این رسپتور در بدن بررسی اثرات آن بر عملکرد فیزیولوژیک و شرایط پاتولوژیک حائز اهمیت است. اندوتوکسمی هاسبب بروز استرس هاس اکسیداتیو و اختلالات ارگانیک در بدن می شود. تا کنون تحقیقی در زمینه بررسی اثرات درمانی Ghrelin در شرایط اندوتوکسمی و خصوصاً آسیب های کلیوی گزارش نشده است. احتمالاً گرلین از طریق کاهش سنتز NOS منجر به بروز پاسخ درمانی می شود. تعداد ۷۰ سر موش صحرایی نژاد Albino Wistar جمعیت مورد مطالعه بودند. رت ها ۱۰ ساعت قبل از خون گیری مقدار 20mg/kg لیپوپلی ساکارید (LPS) به روش IP دریافت کردند. تزریق Ghrelin نیز به مقدار 0.2ml قبل و بعد از تزریق LPS در دوزها و زمان های متفاوت به روش IP انجام گرفت. تغییرات احتمالی در غلظت سرمی Urea و Creatinine خون رت ها به روش فتومترتری مورد آنالیز قرار گرفت. تزریق یک دوز گرلین ۳۰ دقیقه قبل و ۵ دوز گرلین در زمان های ۶۰، ۱۲۰، ۱۸۰، ۲۴۰ و ۳۰۰ دقیقه بعد از تزریق LPS غلظت سرمی Urea را به طور معنی داری کاهش و نیز تزریق دوز Ghrelin به فاصله ۳۰ دقیقه قبل و ۶۰ دقیقه بعد از تزریق LPS به طور معنی داری سبب کاهش غلظت سرمی Creatinine گردید ($P < 0/05$). تزریق شش دوز Ghrelin برای کاهش غلظت سرمی Urea و تزریق دوز Ghrelin برای کاهش غلظت سرمی Creatinine کافی بنظر میرسد. به طور خلاصه گرلین می تواند به عنوان یک عامل مهار کننده اثرات پاتولوژیک LPS در بهبود شرایط ناشی از اندوتوکسمی خصوصاً از طریق کاهش غلظت سرمی Urea و Creatinine در موش های صحرایی عمل کند. پژوهشنامه دامپزشکی، ۱۳۸۹، دوره ۶، شماره ۱، ۳۷-۴۳.
واژه های کلیدی: گرلین، اوره، کراتینین، اندوتوکسمی، موش صحرایی.

مقدمه

مواد سمی از قبیل Urea و Creatinine که حاصل متابولیسم مواد غذایی بخصوص پروتئین ها می باشند توسط کلیه ها و از

طریق ادرار از بدن دفع می شوند. چنانچه در اثر اختلالات کلیوی دفع مواد سمی بخوبی صورت نگیرد تجمع آنها در جریان خون عوارض و آسیب های غیر قابل جبرانی را به اندام ها و ارگان های حیاتی بدن مانند دستگاه عصبی، دستگاه گردش خون، دستگاه



سرمی رت انجام شد اثرات LPS بر افزایش فاکتورهای نظیر BUN، Glucose و Insulin، ASAT، ALAT، LDH را به اثبات رساند. Ghrelin یک هورمون پپتیدی ۲۸ اسید آمینه‌ای است که نخستین بار توسط Kojima و همکاران در سال ۱۹۹۹ به جهان پپتیدها معرفی شد (۹). واژه Ghrelin از Ghre در زبان فرانسوی و از ریشه کلمه (Grow) به معنی رشد و relin به معنی رهایی گرفته شده است. Ghrelin یک لیپوپپتید مغزی - روده‌ای است که پس از ترشح وارد گردش خون شده و خود را به مغز می‌رساند. Ghrelin به طور عمده از سلول‌های اکسینتیک موکوس فوندوس معده ترشح می‌شود اما در بافت‌های مختلف به طور وسیع وجود دارد، بنابراین احتمال می‌رود اثرات اندوکرینی و پاراکرینی نیز داشته باشد. گرلین یک لیگاند اندوژن است که از طریق رسپتور جفت شونده G-Protein سبب ترشح GH می‌شود (۱۰، ۱۱). Ghrelin در خون به دو فرم متفاوت آسیله (n-Octanoyl) و آسیله نشده وجود دارد که قسمت اعظم Ghrelin موجود در خون (۸۰٪-۹۰٪) به فرم آسیله نشده است اما فرم آسیله از نظر زیستی فعال بوده و از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است (۱۱). همچنین به نظر می‌رسد برای ترشح GH فرم آسیله آن ضروری باشد. با وجود این برای فرم آسیله نشده Ghrelin نیز وظایفی مانند حفظ و ادامه حیات دستگاه قلبی - عروقی قائلند. انتشار وسیع رسپتورهای GHS-R که Ghrelin بر آنها موثر واقع می‌شود در بافت‌های مختلف از جمله بافت عصبی، معده، قلب، ریه، پانکرا، کلیه، روده و بافت چربی نشان دهنده وسعت عمل Ghrelin در بدن انسان و حیوانات می‌باشد. این هورمون با افزایش ترشح GH و IGF-1 نقش خود را در سیستم‌های بیولوژیکی ایفا می‌نماید. همچنین گزارشاتی مبنی بر اثرات حفاظتی آن از طریق GH و IGF-1 در مقابل انواع مختلفی از آسیب‌های بافتی منتشر شده است، همانطوریکه بهبود فعالیت سلول‌های اندوتلیال کلیوی از مسیر سیگنالینگ I-IGF به انجام می‌رسد (۱۳، ۱۶). نتایج بررسی روی موش‌هایی که در شرایط محرومیت غذایی قرار داشتند حاکی از این است که گرسنگی سبب افزایش ترشح Ghrelin می‌شود. همچنین آثار مثبت آن بر رفع استرس ناشی از افسردگی به اثبات رسیده است. افزایش ترشح Ghrelin اثرات جانبی دیگری نیز دارد که باعث افزایش اشتها و اضافه وزن می‌شود و محققان نیز در تلاشند از این ویژگی در درمان Nervous Anorexia استفاده کنند. همچنین Ghrelin به طور موضعی در کلیه تولید می‌شود که این موضوع خود نشان دهنده اثرات مستقیم آن بر عملکرد کلیه‌ها است

تنفس، دستگاه ادراری، کبد و غیره وارد می‌سازد. کراتینین در سلول‌های کبدی و پانکراس از آمینواسیدهای Gly، Arg و Met تشکیل می‌شود. این سه آمینواسید ماده‌ای به نام کراتینین فسفات تولید می‌کنند. این ماده همراه با ATP در واکنش‌های انرژی زای عضلات شرکت می‌کند و در عضلات دهیدراته شده و تبدیل به کراتینین می‌شود که وارد خون شده و از کلیه ترشح می‌شود. کراتینین روزانه و بطور ثابت در عضلات تولید و از کلیه‌ها ترشح شده و وارد ادرار می‌شود. Urea نیز در کلیه سنتز می‌شود و آمونیاکی که در بافت وجود دارد از طریق سیاهرگ باب وارد کبد می‌شود و در کبد وارد سیکل اوره می‌شود و تبدیل به اوره شده و به خون بر می‌گردد. این اوره از طریق خون وارد کلیه می‌شود. ۵۰-۶۰٪ آن در کلیه باز جذب می‌شود و بقیه از طریق کلیه‌ها دفع می‌شود. اندوتوکسین باکتری‌های گرم منفی سبب بروز واکنش‌های بیولوژیکی و آسیب‌های بافتی به وسیله تولید آنافیلاکسی و آزاد شدن واسطه‌های بیوشیمیایی از قبیل هیستامین، سروتونین، کینین، فاکتورهای فعال کننده پلاکتی و سایتوکاین‌هایی از قبیل IL-1B و اینترفرون γ می‌شوند. از طرف دیگر LPS به طور مستقیم متابولیسم گلوکز و لیپیدها را مهار می‌کند. هپاتوکسیستی، اختلال عملکرد کلیوی و پراکسیداسیون لیپیدی از طریق تولید رادیکال‌های آزاد نظیر NO، H₂O₂، OH و O₂ ایجاد می‌شود (۱۰). تحقیقات Takeda و همکاران در سال ۲۰۰۶ نشان داد بروز اندوتوکسمی از طریق افزایش غلظت سرمی فاکتورهای نظیر SGPT، SGOT، BUN موجب بروز اختلالاتی در عملکرد کبد و کلیه می‌شود. همانطور که از عملکرد کبد و کلیه مشخص است بروز اختلال در این ارگان‌ها فرآیند سم‌زدایی در بدن را دچار اشکال می‌کند. معمولاً در ارتباط با نارسایی مزمن کلیوی علائمی از قبیل اورمی، اسیدوز مزمن و سوء تغذیه نیز بروز می‌یابد. به دنبال کاهش کلیرانس IGFBP3، غلظت IGF-1 نیز کم می‌شود (۱۶). مطالعات تجربی نشان داده است که با استفاده از دوزاژ سوپرافیز بولوژیک GH می‌توان به بهبود اختلالات کلیوی کمک کرد. همچنین سوء تغذیه‌ای که متعاقب اندوتوکسمی بوجود می‌آید دلیلی بر افزایش ترشح Ghrelin می‌باشد. اما تا کنون در این خصوص مطالعه‌ای به منظور ارزیابی اثرات افزایش Ghrelin اندوژن و نیز تزریق Ghrelin اگرچه در ارتباط با اختلالات کلیوی صورت نگرفته است. تحقیقاتی که در زمینه میکروبیولوژی توسط Rahman Abdel و همکاران در سال ۲۰۰۵ بر روی تعدادی از متابولیت‌ها و آنزیم‌های



دقیقه بعد از تزریق LPS دریافت کردند.

۴-۴) (LPS+Ghrelin) شش دوز Ghrelin را بصورت یک دوز ۳۰ دقیقه قبل و ۵ دوز دیگر به ترتیب در زمان های ۱۲۰، ۶۰، ۱۸۰، ۲۴۰ و ۳۰۰ دقیقه بعد از تزریق LPS دریافت کردند.

۱۰ ساعت پس از پایان تزریقات در هر کدام از گروه‌ها موش‌ها جهت خونگیری مقید شدند. حدوداً ۵ml خون توسط سرنگ از قلب هر کدام از رت‌ها اخذ شد. نمونه‌های خونی اخذ شده در لوله‌های غیر هپارینه سربعاً و با حفظ سیکل سرما جهت آنالیز به آزمایشگاه بیوشیمی و پاتولوژی آموزشدهنده دامپزشکی دانشگاه ایلام ارسال شدند. جهت جداسازی سرم، نمونه‌های خونی به مدت ۱۰ دقیقه در دستگاه سانتریفیوژ (3000 rpm) قرار داده شدند. در گام بعدی با استفاده از متدهای روتین اقدام به سنجش غلظت سرمی Urea و Creatinine توسط کیت‌های Co ZiestChem گردید. از بین متدهای منطقی که برای تعیین مقدار اوره و یا ازت اوره پیشنهاد شده، روش دی استیل مونوکسیم فراگیری خاص دارد و به طور عام مورد پذیرش قرار گرفته است. بر پایه این روش دی استیل مونوکسیم در محیط اسیدی با آب ترکیب شده و تولید دی استیل می‌نماید که از ترکیب آن با اوره مشتق دیازین زرد رنگ ایجاد می‌شود. حضور تیوسمی کاربازید در محیط عمل موجب پیدایش رنگ صورتی پررنگی خواهد شد. شدت رنگ حاصل با غلظت اوره نسبت مستقیم دارد. در ادامه غلظت Urea در طول موج 520nm فرانت گردید. همچنین روش مورد استفاده برای سنجش غلظت کراتینین متد مدل Jaffe می‌باشد که بر پایه این روش کراتینین بابتی کربنات قلیایی تشکیل کمپلکس نارنجی رنگ می‌دهد. (این رنگ مربوط به کراتینین و سایر مواد غیر اختصاصی موجود در ماتریس سرم است). با اسیدی کردن محیط، رنگ ناشی از کراتینین از بین می‌رود، ولی رنگ مربوط به مواد غیر اختصاصی باقی می‌ماند تفاوت شدت رنگ حاصل در 500nm با مقدار کراتینین موجود در نمونه نسبت مستقیم دارد. این اعمال توسط دستگاه اسپکتوفتومتر و ترسیم نمودارهای مرتبط با هر نمونه روی دستگاه کامپیوتر با دقت هر چه تمام تر صورت پذیرفت و داده‌ها با استفاده از فرمول‌های مربوطه محاسبه گردید. نتایج حاصل از بررسی‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS مورد آنالیز قرار گرفت و تمامی داده‌ها به صورت Mean±SE بیان شدند. جهت تعیین اختلاف بین میانگین‌ها از Dunnet Test (روش آنالیز واریانس دو طرفه) استفاده شد و همچنین (P<0/05) به عنوان سطح معنی دار در نظر گرفته شد.

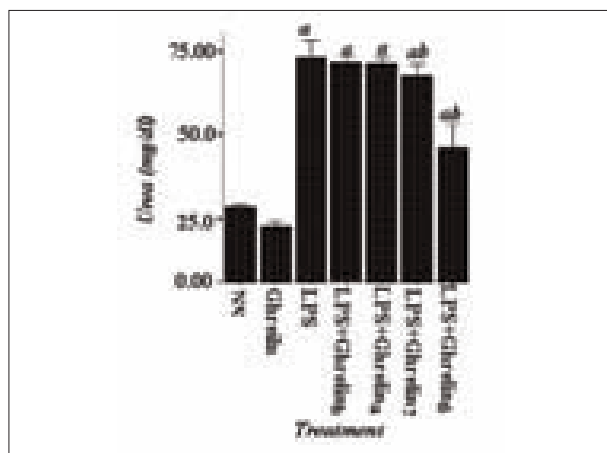
(۵،۱۴). با توجه به مطالب فوق الذکر این احتمال می‌رود که Ghrelin با خاصیت آنتی اکسیدانی خود در بهبود شرایط اندوتوکسمی و اختلالات کلیوی موثر واقع شود و بتواند غلظت سرمی Urea و Creatinine را به سطح Standard باز گرداند.

مواد و روش کار

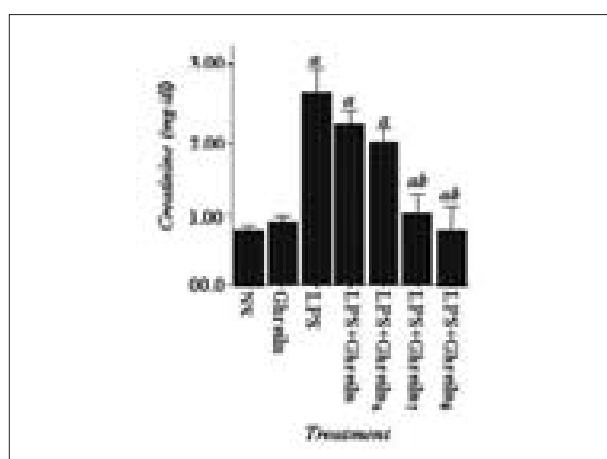
تعداد ۷۰ سر موش صحرایی نر نژاد Albino Wistar با وزنی معادل 150gr - ۲۰۰gr از موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی کرج تهیه و به Animal House آموزشدهنده دامپزشکی دانشگاه ایلام منتقل شدند. همچنین موش‌ها به منظور جلوگیری از بروز استرس به مدت ۲ هفته تحت شرایط جدید نگهداری شدند تا برای انجام تحقیقات مهیا شوند. در طی این مدت رت‌ها در دمای ۲۲۰C تا ۲۴۰C، رطوبت ۶٪، تهویه فضای ۱۵ بار در ساعت، چرخه نوردهی ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی تنظیم و در قفس نگهداری شدند و همچنین به جیره غذایی استاندارد شامل پلت‌های مخصوص و آب آشامیدنی به صورت ad libitum دسترسی داشتند. موش‌ها در ۳ گروه اصلی و ۴ زیر گروه به طور تصادفی تقسیم شدند که هر گروه شامل ۱۰ رت بود. در تمامی گروه‌ها به جز گروه Control از LPS (سروتایپ B۴:۰۱۱۱) به مقدار ۲۰mg/kg حل شده در 0.5ml سرم فیزیولوژی به صورت IP استفاده گردید. پیشتر اثرات اندوتوکسمی و کشنده LPS به میزان ۳۰mg/kg تعیین شد که پس از گذشت ۴-۵ ساعت موجب تلف شدن موش‌های مورد آزمایش گردید. بنابراین دوز مناسب LPS به میزان ۲۰mg/kg جهت انجام تحقیق انتخاب گردید. همچنین گرلین در سرم فیزیولوژی حل شده و به میزان ۶۵۰ g/kg معادل 4nmol/Rat قبل و بعد از تزریق LPS به صورت IP تزریق شد. استراتژی درمانی و پروتکل تزریقات مورد استفاده در این تحقیق به شرح زیر می‌باشد:

- ۱- گروه Control که Normal Saline دریافت کردند.
- ۲- گروه تیماری بین یک تا شش دوز Ghrelin دریافت کردند.
- ۳- گروهی که تنها LPS دریافت کردند.
- ۴- گروه LPS+Ghrelin که به چهار زیر گروه تقسیم شدند:
 - ۱- ۴) (LPS+Ghrelinb) یک دوز Ghrelin را ۳۰ دقیقه قبل از تزریق LPS دریافت کردند.
 - ۲- ۴) (LPS+Ghrelina) یک دوز Ghrelin را ۶۰ دقیقه پس از تزریق LPS دریافت کردند.
 - ۳- ۴) (LPS+Ghrelin2) دو دوز Ghrelin را ۳۰ دقیقه قبل و ۶۰





نمودار ۱: اثرات Ghrelin بر تغییرات غلظت سرمی Urea که در گروه LPS+Ghrelin 6 به طور معنی داری ($P < 0/05$) کاهش یافته است ($n=10$).



نمودار ۲: اثرات Ghrelin بر تغییرات غلظت سرمی Creatinine که در گروه LPS+Ghrelin 2 و LPS+Ghrelin 6 به طور معنی داری ($P < 0/05$) کاهش یافته است ($n=10$).

بر اساس داده‌های فوق برای ممانعت از اثر نفروتوکسیک LPS، تزریق دو دوز Ghrelin برای ممانعت از افزایش غلظت سرمی Creatinine کافی به نظر می‌رسد (نمودار ۲).

بحث و نتیجه‌گیری

القاء شوک سپتیک در اثر تزریق LPS در موش‌ها پارامترهای همودینامیک را دچار تغییر می‌کند و با توجه به اینکه بافت قلبی - عروقی نیز محل اثر Ghrelin می‌باشد، تزریق آن توانست نرخ مرگ و میرت‌های سپتیک را به طرز چشمگیری کاهش و سیستول و دیاستول قلبی را افزایش دهد (۱۲). امروزه محققان بسیاری از بیماری‌های شایع جوامع بشری را به نوعی با استرس اکسیداتیو مرتبط می‌دانند. اندوتوکسمی یک عارضه تهدید کننده حیات است که به صورت عفونت سیستمیک سراسری در بدن متعاقب

نتایج

نشان داد که اختلاف معنی داری در مقایسه غلظت سرمی Urea و Creatinine بین گروه‌های Control و Ghrelin وجود ندارد. گروهی که شش دوز NS دریافت کردند نتایج تقریباً مشابهی با گروه تیماری Ghrelin داشتند. نمودار شماره ۱ نشان می‌دهد در گروه LPS+Ghrelin 6 تزریق شش دوز Ghrelin توانسته است بطور معنی داری ($P < 0/05$) از اثرات LPS بر افزایش غلظت سرمی Urea پلاسما ممانعت به عمل آورد. مقایسه میانگین غلظت Urea در گروه ($73/9 \text{ mg/dl} \pm 0/81 \text{ mg/dl}$) و LPS گروه کنترل ($29/54 \text{ mg/d} \pm 1/31 \text{ mg/d}$) حاکی از ۲.۵ برابر افزایش بوده که این اختلاف از نظر آماری معنی دار می‌باشد ($P < 0/05$). موش‌های گروه تیماری که تنها ۶ دوز Ghrelin دریافت کردند، تغییر معنی داری در غلظت سرمی Urea آن‌ها نسبت به گروهی که NS دریافت کرده بودند ایجاد نشد ($P > 0/05$). دوزهای متفاوت دیگری از Ghrelin در گروه‌های LPS+Ghrelin 2، LPS+Ghrelin 4 و LPS+Ghrelin 6 هر چند موجب کاهش غلظت سرمی Urea گردید، ولی این کاهش از نظر آماری معنی دار نبود ($P > 0/05$). بر پایه نتایج به منظور کاهش غلظت سرمی Urea ناشی از شرایط اندوتوکسمی تزریق ۶ دوز Ghrelin ضروری به نظر می‌رسد (نمودار ۱).

نمودار ۲ تغییرات غلظت سرمی Creatinine بین گروه‌های مختلف تیماری را نشان می‌دهد. نتایج حاصل از تزریق LPS و Ghrelin در زمان‌های متفاوت نشان داد که غلظت سرمی Creatinine در بین گروه‌های LPS+Ghrelin 2 و LPS+Ghrelin 4 به ترتیب $0/94 \text{ mg/dl} \pm 0/53 \text{ mg/dl}$ و $1/21 \text{ mg/dl} \pm 0/71 \text{ mg/dl}$ بود که با نتایج حاصل از گروه کنترل ($0/86 \text{ mg/dl} \pm 0/31 \text{ mg/dl}$) تفاوت معنی داری ($P < 0/05$) داشت. بدین ترتیب مقایسه غلظت سرمی Creatinine بین گروهی که LPS دریافت کرده بود تقریباً ۲/۳ برابر غلظت گروه Control بود، در حالیکه تزریق توأم Ghrelin و LPS بطور معنی داری اثر افزایش یافته غلظت سرمی Creatinine توسط LPS را کاهش داد ($P < 0/05$). اگر چه در گروه LPS+Ghrelin 6 و گروه LPS+Ghrelin 4 غلظت سرمی Creatinine کاهش یافت اما این اختلاف از نظر آماری معنی دار نبود ($P > 0/05$). نتایج نشان داد تزریق Ghrelin در گروه‌های LPS+Ghrelin 2 و LPS+Ghrelin 6 توانسته است در برابر آثار کلیوی LPS مؤثر واقع شود. بدین ترتیب



کراتینین است که تماماً از طریق ادرار دفع می‌شود و آستانه دفع کلیوی آن پایین است و در شرایط پاتولوژیک میزان آن نسبت به Urea کمتر افزایش می‌یابد.

نهایتاً برای یافتن یک پروتکل درمانی قطعی تزریق Ghrelin را تا ۶ مرتبه افزایش دادیم. نتایج بدست آمده در گروه LPS+Ghrelin6 به روشنی نشانگر این نکته است که تزریق ۶ دوز Ghrelin قادر است غلظت افزایش یافته فاکتورهای مورد مطالعه را تا حد STD کاهش دهد. البته باید خاطر نشان کرد که برای کاهش غلظت سرمی Creatinine دریافت ۲ دوز Ghrelin طبق استراتژی اعمال شده در گروه LPS+Ghrelin2 برای تحقق فرضیات این تحقیق کفایت می‌کند. احتمالاً اثرات آنتی‌اکسیدانی Ghrelin منجر به کاهش غلظت سرمی Urea و Creatinine می‌شود. در حالیکه افزایش غلظت متابولیت‌های مذکور شاخصی برای آسیب بافتی کلیه و کاهش غلظت آن‌ها نشانه روند بهبود شرایط اندوتوکسمی است، Tang و همکاران در سال ۲۰۰۳ نیز مطالعاتی در این زمینه روی رت‌های سپتیک انجام دادند. علامت کلیدی اندوتوکسمی هیپوتانسیون است که اغلب با نارسایی چندین ارگان مهم بدن از قبیل ریه، کلیه، کبد و مغز همراه است. یکی از علل عمده ایجاد حالات پاتولوژیک ناشی از اندوتوکسمی‌ها بخش گلیکولیپیدی غشای خارجی باکتری‌های گرم منفی است که موجب تولید سایتوکاین‌ها و آوازودایلاتورهای از قبیل NO می‌شود. تولید مقادیر زیاد NO بدنال القای iNOS وابسته به سایتوکاین‌ها اتفاق می‌افتد که در وخامت شرایط موجود موثر است. عارضه جدی ایجاد شده در اندوتوکسمی نارسایی حاد کلیوی می‌باشد که عامل اساسی در مرگ و میر بالای آن است (Zhang و همکاران در سال ۲۰۰۰ ثابت کردند که eNOS و iNOS سلول‌های پروگزیمال هر دو قادر به تولید سوپراکسید و NO هستند و این اعتقاد برخلاف سایرین می‌باشد که معتقدند پس از القاء iNOS و ترشح فراوان NO در واقع با مهار eNOS صدمات بافتی اتفاق می‌افتد، چنانچه Schultz و همکاران در سال ۱۹۹۲ بیان می‌کنند که مقادیر کمی از NO برای مهار eNOS در مقایسه با iNOS مورد نیاز است (۲۰). LPS با دو مکانیسم تولید مقادیر فراوان NO به دنبال القای iNOS و ایجاد رادیکال‌های آزاد اکسیژن (OFR) سبب بروز شرایط اندوتوکسمی می‌شود. این سندرم معمولاً با نارسایی ارگان‌های حیاتی بدن همراه است که در اثر هیپوتانسیون و کاهش جریان خون کلیوی نارسایی کلیوی حادث می‌شود، اما در مدل‌های حیوانی مشاهده شده که LPS

گشادی پاتولوژیک عروق، اختلالات هماتولوژیک و نارسایی عملکردی اندام‌های حیاتی، ترشح مدیاتورهای التهابی توسط سیستم ایمنی بوجود می‌آید. شوک سپتیک سالانه ۳۰۰ تا ۵۰۰ هزار نفر از جمعیت بیماران در USA را مبتلا می‌کند که علیرغم مراقبت‌های ویژه پیشرفته، آنتی‌بیوتیک تراپی و تحقیق‌های وسیع در پاتوفیزیولوژی این سندرم، مرگ و میر آن حدوداً ۲۰٪ تا ۵۵٪ درصد است. اگر این عارضه با نارسایی چندین ارگان نیز همراه شود مرگ و میر آن تا ۷۰٪ افزایش می‌یابد. در تحقیق حاضر تزریق داخل صفاقی LPS منجر به بروز اندوتوکسمی باکتریایی در موش‌ها گردید. بر پایه نتایج این تحقیق در گروه LPS غلظت سرمی Urea و Creatinine نسبت به گروه Control به نحو قابل ملاحظه‌ای افزایش یافت. LPS از طریق القاء اندوتوکسمی سبب بروز اختلال کلیوی شده و افزایش غلظت فاکتورهای مذکور نیز موید این مطلب است. مطالعات پیشین توسط Takemura و همکاران در سال ۲۰۰۰ نشان داد که افزایش غلظت NO منجر به بروز جراحات گسترده کبدی می‌شود، که بموجب آن سیکل‌آور را دچار اختلال می‌کند. اما با توجه به این یافته‌ها و تحقیق حاضر اختلافی از این نظر که افزایش غلظت Urea صرفاً در مقابل آسیب‌های کلیوی است مشاهده نمی‌شود، بلکه در تکمیل آن کوشیدیم تا با توجه به این نکته که ۶۰٪ از مقادیر آورده سرم در کلیه باز جذب می‌شود، نقش گرلین را تحت شرایط اندوتوکسمی تعیین نماییم. همچنین نتایج این بررسی در تایید مطالعات Crespo و همکاران در سال ۱۹۹۹ نیز بود (۲،۴).

در گروه‌های LPS+Ghrelinb و LPS+Ghrelina، تزریق یک دوز Ghrelin کاهش اندکی در غلظت سرمی Urea و Creatinine نسبت به گروه Control و LPS بوجود آورد. با توجه به مطالب مذکور تزریق یک دوز Ghrelin برای کاهش غلظت سرمی Urea و Creatinine کافی به نظر نمی‌رسد و تزریق دوزهای بیشتری از Ghrelin قابلیت مهار اثرات LPS را دارد. اگرچه در گروه LPS+Ghrelin2 آن گونه که انتظار می‌رفت کاهش قابل ملاحظه‌ای در غلظت سرمی Urea نسبت به گروه Control بوجود نیامد، اما در مورد غلظت سرمی Creatinine کاهش چشمگیری بوجود آمد. با توجه به بالا بودن متابولیسم تولید آورده نسبت به کراتینین غلظت سرمی آورده به حدی افزایش می‌یابد که در مقایسه با غلظت کراتینین تزریق دوز گرلین برای کاهش آن کافی نیست و به مقادیر بالاتری از گرلین تا حدشش دوز برای بروز پاسخ درمانی لازم است. دلیل دیگر در توجیه این امر مربوط به سمی بودن



References

- 1-Arvat, E., Di Vito, L., Broglio, F., Papotti, M., Muccioli, G., Dieguez, C., Casanueva, F. F., Deghenghi, R., Camanni, F., Ghigo, E. (2000) Preliminary evidence that ghrelin, the natural GH secretagogue (GHS) - receptor ligand, strongly stimulates GH secretion in humans. *Endocrinol Invest*, **23**: 493-495.
- 2-Barron, R. L. (1993) pathophysiology of septic shock and implications for therapy. *Clin.pharm*, **12**: 829-845.
- 3-Choi, K. et al. (2003) The role of ghrelin and growth hormone secretagogues receptor on rat adipogenesis. *endocrinology*, **144**: 754-759.
- 4-Crespo, E. et al. (1999) Melatonin inhibits expression of inducible NO synthase in liver and lung and prevent endotoxemia in lipopolysaccharide - induced multiple organ dysfunction syndrome in rats. *FASEB J.*, **13**: 1537 - 1546.
- 5-Cummings, D.E., Frayo, R.S., Marmonier, C., Aubert, R., Chapelot, D.(2004) Plasma ghrelin levels and hunger scores in humans initiating meals voluntarily without time - and food-related cues. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab*, **287**:E297-E304.
- 6-Gualillo, O. et al. (2001) Gender and gonadal influences on gherelin mRNA levels in rat stomach. *Eur. J. Endocrinol*, **44**: 687 - 690.
- 7-Iuvone, T., D Acqissto, F., Carnuccio, R., Di Rosa, M. (1997) Nitric oxid inhibits LPS - induced tumore necrosis factor synthesis in vitro and in vivo. *Life Sci*, **59**: PL 207 - PL 211.
- 8-Kawczynska - Drozd, A., Olszanecki, R., Jawien J., Brozowski, T., Pawlik, WW., Korbut, R., Guzik, T.J. (2006) Gherelin inhibits vascular superoxide production in spontaneously hypertensive rats. *Am. J. Hypertens*, **19**:764 - 767.
- 9-Kojima, M., Hosoda, H., Date, Y., Nakazato, M., Matsuo, H., Kangawa, K. (1999) Ghrelin is a growth - hormone - releasing acylated peptide from stomach. *Nature*, **402**: 656-660.
- 10-Maestroni, G.J.M. (1996) Melatonin as a therapeutic agent in experimental endotoxic shock. *J. Pineal Res*, **20**: 84 - 89.
- حتى در غياب افت قابل توجه فشار خون سیستمیک می تواند آسیب کلیوی ایجاد کند. LPS از طریق افزایش فعالیت iNOS موجب تولید NO در کلیه شده و همچنین موجب افزایش ROS و تشکیل رادیکال های آزاد اکسیژن نظیر سوپراکساید و رادیکال های هیدروکسیل در کلیه می شود (۸،۱۶). انتظار می رود با توجه به اینکه متعاقب اندوتوکسمی تولید NO و رادیکال آزاد اکسیژن افزایش می یابد، عملکرد آنتی اکسیدانی کلیوی نیز دستخوش قرار گیرد احتمالاً مهار OFR، تولید NO، رادیکال های آزاد و سلول های التهابی سبب بروز اختلال کلیوی در این مدل تحقیقاتی شود. Ghrelin با حذف NO تولید پراکسی نیتريت را مهار می کند، پراکسی نیتريت در انواع آسیب های سلولی که توسط رادیکال های آزاد اکسیژن میانجی گری می شود شرکت دارد. Ghrelin (15) یک Scavenger قوی رادیکال های آزاد می باشد که قابلیت حذف آنیون سوپراکسید، هیدروکسیل، پراکسی نیتريت، پراکسیل آبی، اکسیژن تک، ازن، نیتروژن دی اکسید، رادیکال نیترواکسید و اسید هیپوکلروس را دارد. در واقع Ghrelin به عنوان یک آنتی اکسیدان قوی قادر است با خاصیت برداشت رادیکال های آزاد، پراکسیداسیون لیپیدی را نیز مهار کند. نهایتاً در این تحقیق نقش Ghrelin به عنوان یک فاکتور موثر در بهبود شرایط اندوتوکسمی و کاهش غلظت سرمی فاکتورهای Urea و Creatinine اثبات گردید.
- 11-Mori, K. et al. (2000) Kidney produces a novel acylated peptide, gherelin. *FASEB Lett.* **486**: 213-216.
- 12-Nagaya, N., Kojima, M., Uematsu, M., Yamagishi, M., Hosoda, H., Oya, H., et al. Hemodynamic and hormonal effects of human ghrelin in healthy volunteers. *Am J Physiol*, **280**: R1483-R1487.
- 13-Sakaguchi, O., Sakaguchi, S. (1979) Alteration of lipid metabolism in mice injected with endotoxin. *Microbiol. Immunol*, **23**: 71 - 85.
- 14-Seoane, L.M., Lo´pez, M., Tovar, S., Casanueva, F., Sen˜ar?´s, R., Die´guez, C. (2003) Agouti - related peptide, neuropeptide Y, and somatostatin - producing neurons are targets for ghrelin actions in the rat hypothalamus. *Endocrinology*, **144**:544-551.
- 15-Szabo, C. (1995) Alterations in nitric oxide production in various forms of circulatory shock. *New Horiz*, **3**: 2 - 32.



- 16-Takada, R. et al. (2006) ghrelin improves renal function in mice with ischemic acute renal failure. *J. Am. Soc.*, **26**: 201-55.
- 17-Takemura, S., Minamiyama, Y., Inoue, M., Kubo, S., Hiro-hashii. K., Kinoshita, H. (2000) Nitric oxide synthase inhibitor increases hepatic injury with formation of oxidative DNA damage and microcirculatory disturbance in endotoxemia rat. *Hepatology*, **47**: 1364-1370.
- 18-Tang, C., Liu, M.S. (2003) Initial externalization followed by internalization of beta-adrenergic receptors in rat heart during sepsis. *Am J Physiol*, **270 (1 Pt 2)**: R254-63.
- 19-Tschop, M., Weyer, C., Tataranni, P.A., Devanarayan, V., Ravussin, E., Heiman, M.L. (2001) Circulating ghrelin levels are decreased in human obesity. *Diabetes*, **50**:707-709.
- 20- Zhang, C., Walker, L.M., Mayeux, P.R. (2000) Role of nitric oxide in lipopolysaccharide-induced oxidant stress in the rat kidney. *Biochem Pharmacol*, **59** : 203-209.

