

اثر تمرین هوازی بر مولکول‌های آسید دار و غیر آسید دار گرلین در زنان چاق

دکتر خدیجه ایراندوست^۱، دکتر فرهاد رحمانی‌نیا^۲، دکتر حمید مجبی^۳،
دکتر بهمن میرزایی^۴، دکتر صادق حسن‌نیا^۵

۱. استادیار دانشگاه بین‌المللی امام خمینی

۲ و ۳. استاد دانشگاه گیلان

۴. دانشیار دانشگاه گیلان

۵. استادیار دانشگاه گیلان

تاریخ پذیرش مقاله: ۸۷/۱۲/۱۷

تاریخ دریافت مقاله: ۸۷/۷/۲۱

چکیده

کاهش وزن ناشی از محدودیت دریافت کالری سطوح هورمون اشتها آور گرلین پلاسمایی را افزایش می‌دهد، اما اثر افزایش هزینه انرژی ناشی از فعالیت ورزشی بر روی غلظت گرلین مشخص نیست. پژوهش حاضر به ارزیابی سطوح گرلین تام (گرلین غیر آسید دار + گرلین آسید دار) در پاسخ به یک دوره تمرین هوازی با شدت متوسط و بدون رژیم غذایی در زنان چاق میانسال پرداخته است. به علاوه، ارتباط بین تغییرات گرلین با لپتین و انسولین و وزن بدن نیز بررسی شده است. در این تحقیق ۲۳ آزمودنی زن با میانگین سنی $43/02 \pm 6/1$ سال و شاخص توده بدنی $30/5 \pm 1/6$ کیلوگرم بر متر مربع به‌طور تصادفی به دو گروه تمرین و شاهد تقسیم‌بندی شدند. فعالیت دویدن به مدت ۸ هفته و در هر هفته ۴ جلسه با شدت $65-75\%$ حداکثر ضربان قلب ذخیره انجام شد. گرلین آسید دار و غیر آسید دار، لپتین، انسولین، وزن بدن، نسبت دور کمر به باسن، کالری مصرفی و میزان آمادگی هوازی افراد (VO_{2max})، در وضعیت پایه و پس از ۸ هفته تمرین اندازه‌گیری شدند. آزمون t مستقل نشان داد که میزان گرلین تام و غیر آسید دار پلاسمایی در گروه تمرین که کاهش وزنی معادل $1/29 \pm 1/9$ کیلوگرم داشته‌اند، به‌طور معنی‌داری ($p < 0/01$) افزایش یافت، ولی تغییرات گرلین آسید دار معنی‌دار نبود ($p = 0/053$). استفاده از ضریب همبستگی پیرسون نشان داد بین تغییرات گرلین با لپتین و انسولین و وزن بدن ارتباط معنی‌داری وجود ندارد. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که سطوح گرلین غیر آسید دار پلاسمایی در پاسخ به افزایش هزینه انرژی ناشی از فعالیت ورزشی افزایش می‌یابد. به نظر می‌رسد که

افزایش بیشتر غلظت گریلین غیر آسپیل دار نوعی سازگاری فیزیولوژیک است که در پاسخ به کاهش وزن ناشی از فعالیت بدنی ایجاد می شود.

کلیدواژه های فارسی: گریلین غیر آسپیل دار، آسپیل دار، زنان، چاقی، تمرین هوازی.



مقدمه

چاقی یکی از مشکلات شایع در سلامت عمومی است. طبق گزارش سازمان بهداشت جهانی اضافه وزن و چاقی یک همه‌گیری فزاینده است (۱). بر اساس آمار وزارت بهداشت ایران بیش از ۲۷ درصد مردان و ۴۰ درصد زنان کشور چاق هستند (۲). از این رو بررسی سازوکارهای فیزیولوژیکی درگیر در تنظیم کوتاه‌مدت و درازمدت تعادل انرژی برای محققان حائز اهمیت است. شبکه پیچیده‌ای از سیگنال‌ها در هنگام تعادل مثبت انرژی، مسئول مصرف و هزینه انرژی هستند. تعدادی از بافت‌های درون‌ریز مثل لوزالمعده و بافت چربی (۳) و معده (۴) منشأ ارسال این سیگنال‌ها در هورمون‌ستاز انرژی هستند. گرلین هورمونی پتیدی است و عمدتاً از معده و روده کوچک ترشح می‌شود (۴). با این‌که گرلین یک لیگاند درون‌زاد برای گیرنده ترشح‌دهنده هورمون رشد^۱ می‌باشد (۴)، اما در تنظیم دریافت غذا و وزن بدن نیز از طریق سازوکارهایی مستقل از هورمون رشد مشارکت دارد (۵). گرلین یک هورمون اشتهاآور در گردش خون است و یکی از معدود موادی است که وقتی به بدن تزریق می‌شود باعث افزایش اشتها و دریافت غذا می‌گردد (۶). شواهد علمی نشان داده‌اند تزریق طولانی‌مدت گرلین در حیوانات مصرف غذا را افزایش داده و باعث کاهش هزینه انرژی می‌شود که در نهایت به افزایش وزن منجر می‌گردد (۷). مهار موقت پیام‌رسانی گرلین نیز باعث کاهش مصرف غذا و وزن بدن می‌شود (۸-۱۰). این یافته‌ها حاکی از آن دارند که گرلین می‌تواند در یک حلقه بازخورد منفی در تنظیم وزن بدن درگیر باشد (۱۱) و تنظیم کاهشی^۲ غلظت گرلین پلاسمایی به‌عنوان پیامد احتمالی تعادل مثبت انرژی در افراد چاق قابل انتظار است (۱۲). با این فرضیه شاید بتوان پیش‌بینی

1. Growth hormone secretagogue receptor.

2. Down- regulation

کرد که کاهش وزن ناشی از افزایش هزینه انرژی باعث افزایش گرلین می شود و این پاسخ می تواند یک سازگاری فیزیولوژیک باشد که در واکنش به نقصان انرژی ایجاد می شود (۹). در واقع سطوح گرلین پلاسمایی در واکنش به کاهش وزن ناشی از رژیم غذایی کم کالری، بی اشتهایی عصبی و لاغری ناشی از سرطان افزایش داشته است (۹، ۱۰، ۱۲). میزان ترشح گرلین در بین دو جنس و همچنین در مراحل فولیکولی و لوتئال متفاوت گزارش شده است (۱۳) و در تحقیقات نیز غلظت آن در مرحله فولیکولی اندازه گیری شده است (۱۳ و ۱۴).

اختلالات هزینه انرژی در توسعه چاقی نقش مهمی دارند (۱۵). مهمترین بخش هزینه انرژی کل^۱، انرژی مصرفی هنگام فعالیت بدنی^۲ است. در واقع فعالیت بدنی به عنوان یکی از مهم ترین روش های افزایش هزینه انرژی و کاهش وزن در تنظیم تعادل انرژی می تواند مؤثر باشد (۱۵ و ۱۶). اجرای تمرین هوازی متوسط پس از گذشت چهار هفته، عمدتاً به واسطه ایجاد تعادل انرژی منفی باعث کاهش چربی بدن می شود (۱۶). در اغلب تحقیقات ایجاد تعادل انرژی منفی که به کاهش وزن و افزایش غلظت گرلین منجر شده اند، به دلیل محدودیت کالری بوده است (۹). از آنجایی که مصرف مواد غذایی باعث سرکوب گرلین می شود (۱۷)، افزایش آن در شرایط محدودیت غذایی به لحاظ نظری می تواند به دلیل گرسنگی^۳ باشد و نه به علت تأثیر مستقیم کاهش وزن (۱). در مطالعه دیگری که سه هفته برنامه ترکیبی فعالیت بدنی و محدودیت غذایی با ۵٪ کاهش وزن همراه بود، تغییر معنی داری در غلظت گرلین مشاهده نشد (۱۸). علی رغم کاهش وزن بالا، احتمالاً مدت زمان اجرای برنامه برای تغییرات گرلین کافی نبوده است. از طرف دیگر در اکثر مطالعات مرتبط با فعالیت بدنی و ورزش غلظت گرلین تام سنجیده شده است و

1. Total energy expenditure

2. Activity energy expenditure

3. Hypophagia

تغییر معنی‌داری به‌طور عمده در غلظت آن مشاهده نشده است (۲۳-۱۸) و این امر می‌تواند ناشی از تغییرات مولکول‌های آسیدل‌دار و غیرآسیدل‌دار گرلین باشد که به‌طور مجزا اندازه‌گیری نشده‌اند (۲۴). سوآرس^۱ و همکاران (۱۴) بر این عقیده‌اند که اگرچه محصول اصلی ژن گرلین یک پپتید ۱۰ اسیدآمینوای است که در محل سرین^۳ با گروه اکتانوئیک اسید آسیدل‌دار می‌شود، اما پیشرفت‌های اخیر نشان داده‌اند که ژن گرلین می‌تواند مولکول‌های زیست‌فعال دیگری نیز تولید کند که مهم‌ترین آن‌ها گرلین غیرآسیدل‌دار و ابستاتین است. با اینکه گیرنده‌های این پپتیدها شناسایی نشده است، اما عملکردهایی متضاد با گرلین را نشان داده‌اند (۱۴ و ۲۵). در تحقیقی که توسط بروم^۲ و همکاران انجام شد غلظت گرلین آسیدل‌دار و میزان گرسنگی در طی یک ساعت فعالیت بدنی کاهش پیدا کرد (۲۶). مک‌کلوی^۳ و همکاران نیز به بررسی اثرات پنج روز تمرین هوازی متوالی بر غلظت گرلین آسیدل‌دار و غیرآسیدل‌دار پرداختند. در این مطالعه غلظت گرلین تام به‌دنبال تمرینات تغییری پیدا نکرد، در مقابل گرلین آسیدل‌دار در پاسخ به تمرین افزایش یافت (۲۷). این موضوع می‌تواند بیانگر وجود سیستمی با عناصر چندگانه‌ای باشد که عملکرد تنظیم‌کنندگی بر یکدیگر دارند (۱۷).

بنابراین، تحقیق حاضر بر اساس افزایش هزینه انرژی ناشی از تمرین هوازی و بدون کاهش دریافت کالری در زنان چاق طراحی شده است و در پی پاسخ به این سؤالات است: آیا یک دوره تمرین هوازی بدون کاهش کالری دریافتی، می‌تواند آثار متفاوتی بر روی سطوح گرلین آسیدل‌دار و غیرآسیدل‌دار زنان چاق داشته باشد؟ آیا مولکول‌های گرلین به‌دنبال تغییرات وزن در زنان چاق تغییر پیدا

1. Soares et al

2. Broom et al

3. MacKelve et al

می‌کنند؟ و بالاخره آیا میزان دریافت کالری آزمودنی‌ها در طی دوره تمرین تغییر می‌یابد؟

روش پژوهش

پس از توزیع اطلاعاتیه، تعداد ۵۳ نفر از زنان چاق میانسال شهر رشت داوطلبانه برای شرکت در تحقیق ثبت نام کردند. پس از تکمیل پرسش‌نامه غربالگری، ۲۵ نفر از داوطلبان سالم و واجد شرایط زیر انتخاب شدند. آنان در شش ماه گذشته در برنامه‌های تمرین منظم رژیم غذایی و کاهش وزن شرکت نداشتند. شاخص توده بدنی آنها بین $28 < BMI < 40$ کیلوگرم بر متر مربع و دامنه سنی آنها بین ۳۵-۵۰ سال بود. پس از اخذ رضایت‌نامه از شرکت‌کنندگان، از آنها خواسته شد که در مرحله فولیکولی قاعدگی (۱۳) (بین ۹-۳ روز پس از قاعدگی) که بر اساس تاریخ‌های عادت ماهیانه سه ماه گذشته آنان لیست شده بود، در آزمایشگاه حاضر شوند. آزمودنی‌ها ۴۸ ساعت قبل از پیش‌آزمون، از انجام فعالیت‌های ورزشی شدید اجتناب کردند و پس از ۱۲ ساعت ناشتایی (۱) و خواب کافی، در آزمایشگاه پاتوبیولوژی برای خون‌گیری حضور یافتند. در حالت استراحت از سیاهرگ بازویی آنان، ۷ میلی‌لیتر نمونه خونی گرفته شد. اندازه‌گیری‌های آنتروپومتریک و VO_{2max} آزمودنی‌ها نیز در آزمایشگاه فیزیولوژی ورزش انجام شد. سپس آزمودنی‌ها به‌طور تصادفی به دو گروه تمرین و شاهد تقسیم‌بندی شدند.

آزمودنی‌ها در هشت هفته، هر هفته چهار جلسه به مدت ۳۰ دقیقه با شدت ۵۵-۷۵ درصد حداکثر ضربان قلب ذخیره بر اساس معادله کاروونن^۱ دویندند (۵). آنان هفته اول را با ۵۵ درصد، هفته دوم را با ۶۵ درصد و هفته سوم به بعد را با ۷۵ درصد حداکثر ضربان قلب ذخیره فعالیت کردند. شیوه فعالیت در هر جلسه شامل ۱۵ دقیقه گرم‌کردن با حرکات نرمشی، ۳۰ دقیقه دویدن و درنهایت ۱۰

1. Karvonen

دقیقه سردکردن بود. شدت فعالیت با ضربان سنج (پولار، ساخت فنلاند) کنترل می شد.

اندازه گیری قد با قدسنج دیواری، بدون کفش و تا ۰/۱ سانتی متر محاسبه شد. وزن و ترکیب بدن با استفاده از دستگاه سنجش ترکیب بدن با نام تجاری Inbody 3.0 (شرکت Biospace کشور کره جنوبی) اندازه گیری شد. دور کمر در باریک ترین قسمت تنه بین آخرین دنده و تاج خاصره و دور لگن در پهن ترین قسمت آن به وسیله متر نواری اندازه گیری شد و از تقسیم دور کمر به دور لگن، نسبت دور کمر به دور لگن (WHR)^۱ به دست آمد (۱). همه اندازه گیری ها به جز قد پس از ۸ هفته و در پایان پروتکل تمرین تکرار شدند.

اندازه گیری حداکثر اکسیژن مصرفی: اکسیژن مصرفی بیشینه همه آزمودنی ها در دو نوبت پیش آزمون و پس آزمون با به کارگیری دستگاه گاز آنالایزر (Quarkb2، شرکت COSMED، ایتالیا N.C00827-02-91) و با استفاده از آزمون بروس اندازه گیری شد (۱).

ارزیابی های بیوشیمیایی: هفت میلی لیتر از نمونه خونی هر آزمودنی، در وضعیت ۱۲ ساعت ناشتایی از ورید بازویی جمع آوری شد و تا زمان آزمایش در ۷۰- درجه نگهداری شدند. خون گیری در هر دو مرحله بین ساعت ۹-۸ صبح و در مرحله فولیکولی هر آزمودنی انجام گرفت.

گرلین آسیل دار و غیر آسیل دار نیز به شیوه الایزا و با کیت تجاری کمپانی ژاپنی (Mitsubishi Kayaku Latron.Inc) اندازه گیری شدند (۲۸). اندازه گیری لپتین سرم با استفاده از روش الایزا و کیت تجاری کمپانی DBC^۲ صورت گرفت (۲۹). گلوکز پلاسما با روش فتومتری با استفاده از کیت شرکت پارس آزمون سنجیده شد.

1. Waist to hip ratio

2. Diagnostis Biochem Canada Inc.

هورمون انسولین با روش ایمونورادیومتریک^۱ با استفاده از کیت شرکت بایوسورس (Europto S.A)^۲ بلژیک اندازه‌گیری شد که حساسیت آن ۰/۱۵ MI/ml و درصد خطای عیار درونی و بیرونی آن به ترتیب ۵/۹٪ و ۳/۵٪ بودند (۲۴). میزان کالری دریافتی آزمودنی‌ها به شیوه جمع‌آوری اطلاعات با استفاده از پرسشنامه سه‌روزه (۱) در ابتدا، انتها و هر دو هفته یک‌بار در طی مدت اجرای تمرینات انجام می‌گرفت. یک روز تعطیل، یک روز اجرای ورزش و یک روز استراحت آزمودنی‌ها برای تکمیل پرسشنامه تغذیه در نظر گرفته شد. به آزمودنی‌ها توصیه شد که رژیم غذایی معمول خود را در طی دوره تحقیق رعایت نمایند.

در این تحقیق علاوه بر استفاده از آمار توصیفی، برای مقایسه دو گروه تمرین و شاهد از آزمون t مستقل و دو گروه تمرین دارای کاهش وزن و بدون کاهش وزن و گروه شاهد از تحلیل واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی شفه استفاده شد، همچنین ضریب همبستگی پیرسون برای تحلیل ارتباط بین داده‌ها به کار برده شد. کلیه عملیات آماری تحقیق با نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ انجام شد و سطح معنی‌داری آزمون‌ها $p < 0/05$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

اطلاعات ۲۳ آزمودنی در آزمون‌های اولیه و نهایی به‌طور کامل ثبت شد. یک نفر از زنان چاق در گروه تمرین و یک نفر از گروه شاهد در آزمون‌های نهایی شرکت نکردند. براساس تجزیه و تحلیل داده‌ها، در میانگین وزن، سن و میزان دریافت انرژی، سطح آمادگی افراد، غلظت گرلین آسیل‌دار و غیرآسیل‌دار پلاسمایی در بین دو گروه تمرین (تعداد ۱۵ نفر) و گروه شاهد (تعداد ۸ نفر) در وضعیت پایه،

1. Immunoradiometric assay

2. Biosource

تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. غلظت گرلین تام (مجموع گرلین آسپیل‌دار و غیرآسپیل‌دار) و غیرآسپیل‌دار پلاسمایی پس از هشت هفته تمرین در مقایسه با گروه شاهد افزایش معنی‌داری ($p < 0/001$) نشان داد. هیچ تغییر معنی‌داری در غلظت گرلین آسپیل‌دار مشاهده نشد. گروه تمرین $1/29 \pm 1/09$ کیلوگرم کاهش وزن نشان دادند. تغییرات معنی‌داری در غلظت انسولین مشاهده نشد. سطوح لپتین در گروه تمرین کاهش معنی‌داری نشان داد ($p = 0/026$).

با بررسی دقیق‌تر اطلاعات در گروه تمرین، مشاهده شد که تعدادی از آزمودنی‌ها پس از اجرای تمرینات، کاهش وزن نداشته‌اند، لذا گروه تمرین نیز به دو گروه کاهش وزن و بدون کاهش وزن تقسیم‌بندی شدند. ویژگی‌های توصیفی و هورمونی آزمودنی‌ها در دو گروه تمرین و یک گروه شاهد و همچنین تغییرات آن‌ها پس از مداخله تمرین و معنی‌داری آن‌ها براساس تجزیه و تحلیل واریانس یک‌طرفه در جدول ۱ و ۲ آمده است. معنی‌داری تغییرات سطوح گرلین غیرآسپیل‌دار و آسپیل‌دار پلاسمایی در سه گروه با استفاده از تجزیه و تحلیل واریانس و آزمون شفه در شکل‌های ۱ و ۲ نشان داده شده است.

هنگامی که ارتباط متغیرها در بین سه گروه مورد مطالعه قرار گرفت، بین سن و تغییرات وزن در گروه تمرین با وزن ثابت، همبستگی منفی معنی‌داری مشاهده شد. با اینکه ارتباط بین گرلین تام و مولکول‌های آن با وزن، انسولین، گلوکز و لپتین منفی بود، اما هیچ ارتباط معنی‌داری بین آن‌ها در وضعیت پایه و پس از آزمون مشاهده نشد.

جدول ۱. ویژگی‌های عمومی آزمودنی‌ها قبل از مداخله تمرین و تغییرات آنها پس از ۳۲ جلسه تمرین هوازی

متغیرها	گروه‌ها	گروه چاق تمرین دارای کاهش وزن n=۸		گروه چاق تمرین بدون کاهش وزن n=۷		گروه چاق شاهد n=۸	
		M ± SD	M ± SD	M ± SD	M ± SD	M ± SD	M ± SD
سن (سال)		۴۲ ± ۵/۶۹	-	۴۷ ± ۵/۲۲	-	۴۴/۶۳ ± ۵/۶۸	-
وزن بدن (کیلوگرم)		۷۷/۲۴ ± ۳/۸۱	-۲/۸۶ ± a	۷۱/۶۶ ± ۶/۳۰	۰/۵۱ ± d	۷۳/۹۵ ± ۳/۶۷	-۰/۳ ± ۱/۲۱
شاخص توده بدن (کیلوگرم بر مترمربع)		۳۱/۳۶ ± ۲/۰۴	-۱/۰۹ ± a	۲۹/۸۱ ± ۱/۴۹	۰/۲ ± ۰/۱۲	۳۰/۳۱ ± ۱/۰۱	-۰/۰۲۵ ± ۰/۶۷
چربی بدن (%)		۴۰/۴۲ ± ۲/۸۱	-۰/۹۵ ± ۱/۲۶	۴۱/۳۸ ± ۲/۸۹	۰ ± ۰/۷۲	۴۱/۱۰ ± ۲/۶۳	-۰/۵۷۵ ± ۰/۷۹
توده چربی (کیلوگرم)		۳۱/۲۷ ± ۳/۴۳	-۱/۸۱ ± ۱/۲a	۲۹/۶۴ ± ۲/۹۶	-۰/۱۱ ± ۰/۳۶	۳۰/۳۸ ± ۲/۵۵	-۰/۵۷۵ ± ۰/۸۸
نسبت دور کمر به دور لگن		۰/۹۸ ± ۰/۰۴	-۰/۲ ± ۰/۰۱	۱/۰۱ ± ۰/۰۵	-۰/۰۲ ± ۰/۰۳	۰/۹۹ ± ۰/۰۳۵	-۰/۰۰۳۷ ± ۰/۰۲
حداکثر اکسیژن مصرفی (میلی لیتر/کیلوگرم/دقیقه)		۲۱/۰۹ ± ۲/۱۹	۴/۵۹ ± c	۲۱/۹۷ ± ۲/۵۱	۵/۰۵ ± d	۲۱/۷۱ ± ۳/۲۸	-۰/۲۹ ± ۳/۰۳
کالری مصرفی در ۲۴		۱۹۲۸ ±	-۸۰ ±	۲۰۴۸ ±	۲۸۵ ±	۲۲۳۵ ±	۵۰ ±

۳۵	۴۵۰	۸۲ ^d	۳۹۰	۵۲ ^b	۵۶۰	ساعت (کیلوکالری)
----	-----	-----------------	-----	-----------------	-----	------------------

مقادیر به صورت میانگین \pm انحراف استاندارد نشان داده شده‌اند ($p < 0.05$).

a: تفاوت معنی‌دار گروه کاهش وزن در برابر گروه وزن ثابت و گروه شاهد

b: تفاوت معنی‌دار گروه کاهش وزن در برابر گروه وزن ثابت

c: تفاوت معنی‌دار گروه کاهش وزن در برابر گروه شاهد

d: تفاوت معنی‌دار گروه وزن ثابت در برابر گروه شاهد

جدول ۲. ویژگی‌های هورمونی آزمودنی‌ها قبل از مداخله تمرین و تغییرات آنها
پس از ۳۲ جلسه تمرین هوازی

گروه چاق شاهد		گروه چاق تمرین بدون کاهش وزن		گروه چاق تمرین دارای کاهش وزن		
تغییرات از پیش‌آزمون تا پس‌آزمون	پیش‌آزمون	تغییرات از پیش‌آزمون تا پس‌آزمون	پیش‌آزمون	تغییرات از پیش‌آزمون تا پس‌آزمون	پیش‌آزمون	
$-21/49 \pm$ ۲۴/۳۳	$106/6 \pm$ ۹/۵۵	$17/71 \pm$ ۲۹/۴۳ ^d	\pm ۱۰۴/۶۹ ۱۰/۹۹	$44/88 \pm$ a ۱۹/۹	$95/58 \pm$ ۱۷/۷۷	گرلین تام (فمتومول بر میلی‌لیتر)
$-2/02 \pm$ ۳/۱۷	$6/89 \pm$ ۲/۳۷	$-0/24 \pm$ ۲/۸	$6/64 \pm$ ۱/۷۶	$0/8 \pm$ ۱/۷۰	$5/18 \pm$ ۱/۸۲	گرلین آسیل‌دار (فمتومول بر میلی‌لیتر)
$-19/47 \pm$ ۲۲/۴	$99/71 \pm$ ۸/۳۲	$17/95 \pm$ ۲۸/۳ ^d	$98/05 \pm$ ۱۰/۳	$44/08 \pm$ a ۱۹/۴۲	$90/4 \pm$ ۱۶/۸۵	گرلین غیرآسیل‌دار (فمتومول بر میلی‌لیتر)
$-1/29 \pm$	$20/6 \pm$	$-2/7 \pm$	$15/94 \pm$	$-9/6 \pm$	$21/82 \pm$	لپتین

۷/۷۱	۸/۷۸	۴/۱۷	۵/۶۹	۴/۵ ^c	۴/۵۵	(نانوگرم بر میلی لیتر)
-۳/۶۳ ± ۳/۵۲	۱۹/۲۵ ± ۵/۹۹	۲/۷۶ ± ۲/۸۹ ^d	۱۳/۷۶ ± ۲/۸۶	-۳/۸ ± b ۵/۹۹	۲۳/۷۱ ± ۷/۰۱	انسولین (میکرو واحد بر میلی لیتر)

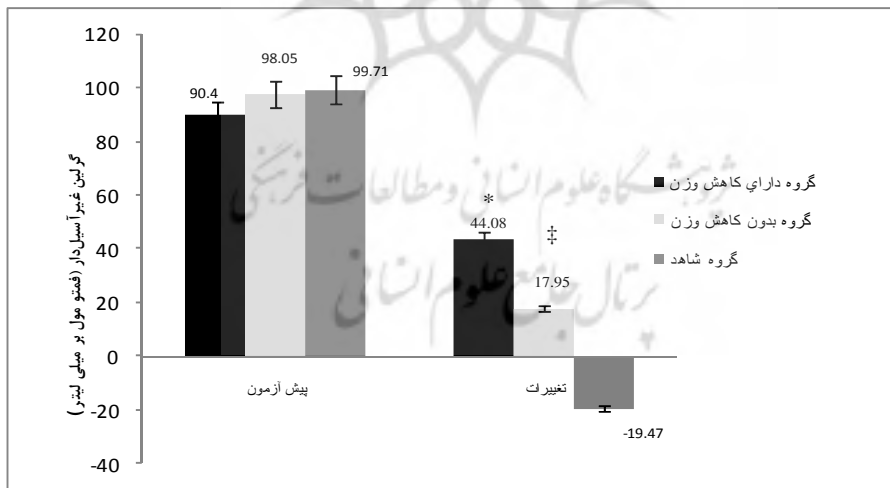
* مقادیر به صورت میانگین ± انحراف استاندارد نشان داده شده‌اند (p < ۰/۰۵).

a: تفاوت معنی‌دار گروه کاهش وزن در برابر گروه وزن ثابت و گروه شاهد

b: تفاوت معنی‌دار گروه کاهش وزن در برابر گروه وزن ثابت

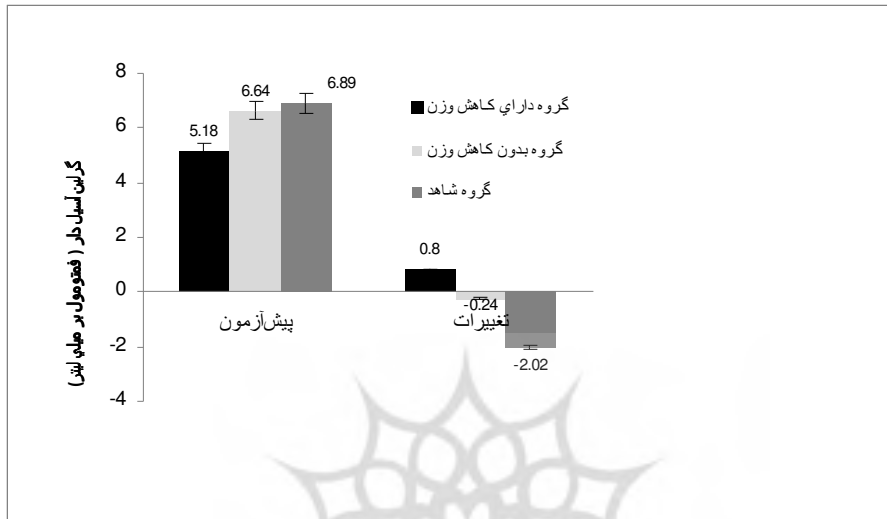
c: تفاوت معنی‌دار گروه کاهش وزن در برابر گروه شاهد

d: تفاوت معنی‌دار گروه وزن ثابت در برابر گروه شاهد



شکل ۱. مقایسه تغییرات گرلین غیرآسیل‌دار در گروه‌های تمرین دارای کاهش وزن و بدون کاهش وزن و گروه شاهد در مرحله پیش‌آزمون و تغییرات آن پس از ۸ هفته تمرین هوازی. مقادیر به صورت میانگین و خطای استاندارد آورده شده است. (p < ۰/۰۵)

* : تغییرات معنی دار گروه کاهش وزن در برابر گروه وزن ثابت و گروه شاهد ، † : تغییرات معنی دار گروه کاهش وزن در برابر گروه شاهد



شکل ۲. مقایسه تغییرات گرلین آسپیل دار در گروههای تمرین دارای کاهش وزن و بدون کاهش وزن و گروه شاهد در مرحله پیش آزمون و تغییرات آن پس از ۸ هفته تمرین هوازی. مقادیر به صورت میانگین و خطای استاندارد آورده شده است. ($p < 0.05$)

بحث

نتایج نشان داد که سطوح گرلین تام و گرلین غیرآسپیل دار همراه با کاهش وزن ناشی از ۸ هفته مداخله تمرین افزایش معنی داری پیدا کرد. اگرچه میانگین کاهش وزن ($1/29 \pm 1/09$ کیلوگرم) و افزایش گرلین تام ($29/53 \pm 26$ فمتومول بر میلی لیتر) در گروه تمرین (تعداد ۱۵ نفر) به نسبت کوچک بود، اما هنگامی که آزمودنی‌های گروه تمرین براساس تغییرات وزن به دو گروه دارای کاهش وزن و بدون کاهش وزن تقسیم بندی شدند، گروه دارای کاهش وزن افزایش بیشتری در غلظت گرلین پلاسمایی نشان دادند. مطالعه فاستر- شوبرت و همکاران^۱ بر روی زنان یائسه چاق با میانگین کاهش وزنی معادل $1/4 \pm 0/4$ کیلوگرم، با افزایش

1. Foster-schubert et al

معنی دار سطوح گرلین پلاسمایی همراه بود (۱). اما زمانی که طبقه‌بندی بر اساس تغییرات وزن انجام شد، گروهی که وزنشان بدون تغییر بود، در غلظت گرلین پلاسمایی تفاوت معنی‌داری را نشان ندادند. در پژوهش حاضر، بر اساس واریانس یک‌طرفه بین گروه تمرین با کاهش وزن و دو گروه بدون کاهش وزن و شاهد غلظت گرلین آسپیل‌دار پلاسمایی تفاوت معنی‌داری را نشان داد (شکل ۱). در حالی که گرلین غیرآسپیل‌دار با افزایش قابل ملاحظه‌ای (۴۹٪) در گروه کاهش وزن همراه بود، در گروه تمرین بدون کاهش وزن نیز افزایش این مولکول به میزان کمتری (۱۱٪) مشاهده شد. با این وجود تفاوت بین این گروه و گروه شاهد نیز معنی‌دار بود. این یافته‌ها نشان می‌دهند در گروهی که متغیر وزن تحت تأثیر تمرین کاهش معنی‌داری داشته است، افزایش بیشتری در غلظت گرلین غیرآسپیل‌دار روی داده است، اما به نظر می‌رسد عامل دیگری غیر از تغییر وزن در گروهی که به دنبال تمرین کاهش وزن نداشته‌اند در افزایش گرلین غیرآسپیل‌دار تأثیرگذار بوده است. این احتمال وجود دارد اثرات متابولیکی ناشی از تمرین به صورت مستقل از کاهش وزن بر روی تغییرات سطوح گرلین غیرآسپیل‌دار مؤثر باشد. در مطالعه فاستر-شوبرت بر روی زنان یائسه چاق تنها در گروه کاهش وزن زنان یائسه، سطوح گرلین تام پلاسمایی افزایش معنی‌داری نشان داده است، در حالی که در گروه تمرین بدون کاهش وزن تغییر معنی‌داری در غلظت گرلین تام مشاهده نشده است (۱) و محققان اظهار داشته‌اند که تمرین به خودی خود و مستقل از تغییرات وزن تأثیری بر روی غلظت گرلین تام پلاسمایی نشان نداده است (۱).

در این مطالعه با اینکه به آزمودنی‌ها توصیه شد از رژیم غذایی معمول خود پیروی نمایند، اما با محاسبه کالری دریافتی در گروه تمرین بدون کاهش وزن مشخص شد که از هفته ششم به بعد به طور متوسط 285 ± 82 کیلوکالری افزایش مصرف داشته‌اند و با بررسی دقیق‌تر مشخص شد که این گروه در روزهای غیرفعال هفته تمایل به مصرف غذای بیشتری داشته‌اند. البته این احتمال وجود

دارد که آزمودنی‌ها میزان انرژی دریافتی خود را کمتر از میزان واقعی نیز گزارش کرده باشند (۳۵). از طرف دیگر در همین گروه تا هفته ششم کاهش وزنی در حدود $0/6 \pm 0/3$ کیلوگرم مشاهده شد، اما به تدریج در آنان تمایل به کسب مجدد وزن به وجود آمده است، این احتمال وجود دارد که پاسخ‌های جبرانی فیزیولوژیک گرلین از هفته‌های میانی مداخله تمرین آغاز شده ولی با بالا رفتن میزان کالری دریافتی و عدم حفظ تعادل منفی انرژی تداوم این پاسخ متوقف شده باشد، به‌رحال چون امکان اندازه‌گیری غلظت گرلین در میانه تحقیق وجود نداشت با مقایسه مطالعه هیون جان (۲۴) این موضوع محتمل است. احتمال دیگر این است که تمرین به‌عنوان یک عامل مؤثر در تغییرات متابولیسم به خودی خود بر روی غلظت گرلین تأثیرگذار بوده و از طریق مکانیسم ناشناخته دیگری، غیر از سیگنال‌دهی ذخایر چربی بدن (۲۵) این افزایش روی داده است. در تحقیق مورپورگو و همکاران^۱ (۱۸) نیز با وجود کاهش وزن افراد در پاسخ به یک برنامه ترکیبی کاهش وزن، در غلظت گرلین پلاسمایی تغییر معنی‌داری مشاهده نشد. البته مدت اجرای طرح سه هفته بوده و به عقیده محققان ممکن است که فرصت کافی برای ارائه پاسخ‌های جبرانی و تغییر غلظت گرلین وجود نداشته است. در مطالعه راووسین و همکاران^۲ (۲۲) نیز در پاسخ به ۹۳ روز تعادل منفی انرژی ناشی از تمرین و محدودیت کالری، هیچ تغییر معنی‌داری در غلظت گرلین به دست نیامده است. با اینکه تحقیق آنان بسیار عالی طراحی شده بود، اما شاید تغییرپذیری بسیار بالای گرلین و تعداد کم آزمودنی‌ها (۱۳ نفر) از عوامل مؤثر در عدم افزایش گرلین تلقی شوند. البته در مطالعات فوق فقط گرلین تام اندازه‌گیری شده است و این احتمال وجود دارد که گرلین تام نمایانگر دقیقی از تغییرات مولکول‌های آسپیل‌دار و غیرآسپیل‌دار گرلین نبوده باشد (۱۴). در تحقیق حاضر با

1. Morpurgo et al.

2. Ravoussin et al

اینکه تغییرات گرلین تام و غیرآسیل‌دار بین گروه‌های تمرین و شاهد معنی‌دار بود و هیچ تغییر معنی‌داری در غلظت گرلین آسیل‌دار یعنی فرم فعال گرلین در درون گروه‌ها و بین گروه‌ها مشاهده نشد ($p=0/12$)، لیکن با بررسی تغییرات میانگین‌ها مشخص شد که در گروه تمرین با کاهش وزن تغییرات افزایشی بود (از فمتومول بر میلی‌لیتر $1/7 \pm 5/30$ به $2/4 \pm 6/15$ فمتومول بر میلی‌لیتر) درحالی‌که در گروه بدون کاهش وزن و گروه شاهد این روند کاهشی بود (به‌ترتیب از $3/5 \pm 8/6$ به $1/8 \pm 6/1$ فمتومول بر میلی‌لیتر در گروه تمرین با وزن ثابت و $2/3 \pm 6/8$ به $1/9 \pm 4/4$ فمتومول بر میلی‌لیتر).

هیون جان و همکاران^۱ در تحقیقی بر روی پسران نوجوان دریافتند که غلظت گرلین تام و غیرآسیل‌دار از زمان اندازه‌گیری پایه تا هفته ۴ و ۱۲ پس از تمرین به‌تدریج افزایش داشته است (۲۴). گرلین غیرآسیل‌دار غلظت کلسیم درون سلولی را در نرون‌های ارکسین^۲ در آزمایشگاه افزایش می‌دهد (۳۱). تزریق گرلین غیر آسیل‌دار به صورت مرکزی می‌تواند نرون‌های بیان‌کننده ارکسین را فعال سازد (۳۲) و این احتمال وجود دارد که عملکرد تنظیم‌کنندگی رفتار دریافت غذا با پروتئینی غیر از GHS-R تعامل داشته باشد (گرلین آسیل‌دار به‌عنوان لیگاند GHS-R شناسایی شده است) (۳۱). گرلین غیرآسیل‌دار دارای فعالیت‌های بیولوژیکی بر روی تکثیر و متابولیسم کاردیومیوسیت، آدیپوسیت و میوسیت‌ها می‌باشد (۳۱). در بسیاری از این سلول‌ها GHS-R بیان نمی‌شود و گرلین غیرآسیل‌دار با غشای این سلول‌ها پیوند می‌یابد (۳۲). در ارتباط با گرلین غیرآسیل‌دار و میزان مصرف غذا نتایج ضد و نقیضی در تحقیقات وجود دارد. آساکاوا^۳ و همکاران او با تزریق مرکزی گرلین غیرآسیل‌دار به موش‌ها مشاهده

1. Hyunjun et al.

2. Orexin

3. Asakawa et al.

کردند که میزان مصرف غذا و سرعت تخلیه غذا از معده از طریق عملکرد آن در هیپوتالاموس کاهش یافت (۳۳)؛ اما توشینایی^۱ و همکاران اظهار داشته‌اند که گرلین غیرآسیل‌دار از طریق نرون‌های ارکسین در نواحی جانبی هیپوتالاموس باعث افزایش مصرف غذا در جوندگان می‌شود (۳۱). تأثیر مولکول غیرآسیل‌دار گرلین به روی تغییرات اشتها در مطالعات حیوانی در دو طیف متضاد به‌وضوح مشاهده می‌شود (۳۳-۳۱ و ۲۵). در مطالعه حاضر با افزایش بیشتر گرلین غیرآسیل‌دار در زنان تمرین‌کرده با کاهش وزن، در میزان مصرف کالری و اشتها آنان افزایشی مشاهده نشد، اما در گروه تمرین بدون کاهش وزن با وجود افزایش اندک در گرلین غیرآسیل‌دار، افزایش دریافت کالری نیز ثبت شده است. به عقیده آساکاوا بر خلاف گرلین آسیل‌دار، گرلین غیرآسیل‌دار به‌واسطه کاهش مصرف غذا، باعث ایجاد تعادل منفی انرژی می‌شود (۳۳). اما در گروه تمرین‌کرده با وزن ثابت و مصرف کالری مشاهده می‌شود، مکانیزم این تضاد به‌درستی مشخص نیست شاید روند کاهش گرلین آسیل‌دار در گروه بدون کاهش وزن نیز به‌عنوان عامل مؤثر در این مکانیزم درگیر باشد (۵). در واقع عملکرد متضاد گرلین آسیل‌دار و غیرآسیل‌دار می‌تواند حاکی از این باشد که معده به‌عنوان یک اندام درون‌ریز می‌تواند در تنظیم تعادل انرژی اثرگذار باشد (۵ و ۳۳) این عقیده به‌واسطه کشف پپتید ابستاتین^۲ بیشتر حمایت می‌شود (۱۴).

شواهدی مبنی بر وجود همبستگی بین سطوح گرلین پلاسمایی و سن وجود دارد (۳۴). در مطالعه حاضر نیز بین گرلین تام با سن در گروه تمرین بدون کاهش وزن در وضعیت پایه همبستگی معکوس و معنی‌داری مشاهده شد، (۰/۷۵ - r =درحالی که در بین سایر گروه‌ها در هیچ مرحله‌ای همبستگی معنی‌داری بین گرلین تام و سن مشاهده نشد.

1. Tushinayi et al.

2. Obestatin

سازوکارهایی که به واسطه آن کاهش وزن منجر به افزایش گرلین می‌شود هنوز ناشناخته است (۱ و ۱۸). هنوز دقیقاً مشخص نیست که کدامیک از اجزای ترکیب بدن با دستگاه تنظیم گرلین در ارتباط هستند و چه عواملی تغییرات اجزای بدن را به سلول‌های تولیدکننده گرلین در معده ابلاغ می‌کنند (۳). البته فقط کاهش لپتین در گروه کاهش وزن معنی‌دار بود و در دو گروه دیگر تغییرات لپتین به‌عنوان آنتاگونیست گرلین فعال (۳) معنی‌دار نبوده است (جدول ۲). در این مطالعه، ارتباط سطوح گرلین تام پایه با وزن بدن، BMI و نسبت دور کمر به لگن، معکوس ولی غیرمعنی‌دار بود. در برخی از مطالعات نیز ارتباط معکوس و معنی‌دار مشاهده نشده است (۹ و ۲۷). در تحقیق حاضر بین لپتین و انسولین با گرلین تام در وضعیت پایه و تغییرات آن، ارتباط معکوس ولی غیرمعنی‌دار مشاهده شد. ارتباط منفی بین سطوح گرلین تام با انسولین و لپتین به‌عنوان آنتاگونیست‌های گرلین در مطالعات دیگر نیز گزارش شده است (۳۵، ۱۱، ۳). شاید به‌دلیل محدود بودن دامنه BMI در این تحقیق ارتباط معنی‌داری بین این متغیرها مشاهده نشد. در مطالعه فاستر - شوبرت و همکاران نیز همبستگی معنی‌داری بین گرلین و لپتین یا انسولین مشاهده نشد (۱).

نتیجه‌گیری

به‌طور خلاصه، در پژوهش حاضر نشان داده شد که با کاهش وزن ناشی از هزینه انرژی در مدت هشت هفته فعالیت هوازی و بدون کاهش دریافت کالری، گرلین غیرآسیل‌دار به‌طور معنی‌داری افزایش یافت، اما در مولکول آسیل‌دار گرلین تغییر معنی‌داری مشاهده نشد. بر اساس بخشی از نتایج تحقیق به‌نظر می‌رسد که سطوح گرلین در پاسخ به تغییرات وزن بدن در یک حلقه بازخورد منفی، سازگاری جبرانی فیزیولوژیک خاصی نشان می‌دهد تا وزن بدن به نقطه تنظیم شده باز گردد. همچنین بدون مشاهده کاهش وزن و به‌دنبال ۳۲ جلسه فعالیت بدنی نیز

غلظت گرلین غیرآسیل دار روند افزایشی نشان داد. اما غلظت گرلین آسیل دار بدون تغییر وزن رو به کاهش بود، میزان دریافت کالری و اشتها افزایش یافت.

منابع:

1. Foster-Schubert KE, Tiernan AM, Scott Frayo R, Schwartz RS, Rajan KB, Yasui Y, Tworoger SS, Cummings DE (2005). Human Plasma Ghrelin Levels Increase during a One-Year Exercise Program. *J Clin Endocrinol Metab.* 90 (2):820-825.
2. Azizi F, Allahverdian S, Mirmiran P, Rahmani M, Mohammadi F, (2001) Dietary factors and body mass index in a group of Iranian adolescents: Tehran lipid and glucose study. *Int J Vitam Nutr Res.* 71:123-127.
3. Cummings DE, Foster KE (2003). Ghrelin-leptin tango in body-weight regulation. *Gastroentero.* 124:1532-1544.
4. 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.
5. Gil-Campos M, Aguilera C, Can R, Gil (2006). A Ghrelin: a hormone regulating food intake and energy homeostasis. *Br J Nutr.* 96:201-226.
6. Wren AM, Seal LJ, Cohen MA, Brynes AE, Frost GS, Murphy KG, Dhillo WS, Ghatei MA, Bloom SR (2001) Ghrelin enhances appetite and increases food intake in humans. *J Clin Endocrinol Metab.* 86:5992-5995
7. Tschop M, Smiley DL, Heiman ML (2000). Ghrelin induces adiposity in rodents. *Nature.* 407:908-913.
8. Asakawa A, Inui A, Kaga T, Katsuura G, Fujimiya M, Fujino MA, Kasuga M (2003) Antagonism of ghrelin receptor reduces food intake and body weight gain in mice. *Gut.* 52:947-952.
9. Cummings DE, Weigle DS, Frayo RS, Breen PA, Ma MK, Dellinger EP, Purnell JQ (2002) Human plasma ghrelin levels after diet-induced weight loss and gastric bypass surgery. *N Engl J Med.* 346:1623-1630
10. Shimizu Y, Noritoshi N, Isobe T, Michinori I, Okumura H, Hosoda H, Kojima M, Kangawa K, Kohno N (2003) Increased plasma ghrelin levels in lung cancer cachexia. *Clin Cancer Res.* 9:774-778.
11. Ikezaki A, Hosada H, Ito K, Iwama S, Miura N, Matsuoka H, Kondo C, Kojima M, Kangawa K, Sugihara S (2002) Fasting plasma ghrelin levels are negatively correlated with insulin resistance and PAI-1, but not with leptin, in obese children and adolescents. *Diabetes.* 51:3408-3411.

12. Tschop M, Weyer C, Tataranni PA, Devanarayan V, Ravussin E, Heiman ML (2001) Circulating ghrelin levels are decreased in human obesity. *Diabetes*. 50:707-709.
13. Barkan AL, Dimaraki EV, Jessup SK, Symons KV, Ermolenki M, Jaffe CA. (2003) Ghrelin secretion in humans is sexually dimorphic, suppressed by somatostatin, and not affected by the ambient growth hormone levels. *J Clin Endocrinol Metab* 88:2180-2184
14. Soares JB, Leite-Moreira AF (2008) Ghrelin, des-acyl ghrelin and obestatin: three pieces of the same puzzle. *Peptides*. 29(7):1255-70.
15. Poirier P, Després JP. (2001) Exercise in weight management of obesity. *Cardiol Clin*. 19 (3):459-70
16. Borer K T. (2008) How effective is exercise in producing fat loss? *Kinesiology* 40(2):126-137
17. Tschop M, Wawarta R, Riepl RL, Friedrich S, Bidlingmaier M, Landgraf R, Folwaczny C (2001) Post-prandial decrease of circulating human ghrelin levels. *J Endocrinol Invest*. 24:RC19-R21.
18. Morpurgo PS, Resnik M, Agosti F, Cappiello V, Sartorio A, Spada A. (2003) Ghrelin secretion in severely obese subjects before and after a 3-week integrated body mass reduction program. *J Endocrinol Invest*. 26(8):723-7.
19. Burns SF, Broom DR, Mundy C, Miyashita M, Stensel DJ. (2007) A single session of treadmill running has no effect on plasma total ghrelin concentrations. *J Sports Sci*. 25: 635-642.
20. Dall R, Kanaly J, Troels KH, Moller N, Christiansen JS, Hosoda H, Kangawa K, Jorgensen JO (2002) Plasma ghrelin levels during exercise in healthy subjects and in growth hormone-deficient patients. *Eur J Endocrinol*. 147:65-70.
21. Kraemer RR, Durand RJ, Acevedo EO, Johnson LG, Kraemer GR, Hebert EP, Castracane VD (2004) Rigorous running increases growth hormone and insulin-like growth factor-I without altering ghrelin. *Exp Biol Med*. 229:240-246.
22. Ravussin E, Tschop M, Morales S, Bouchard C, Heiman ML (2001) Plasma ghrelin concentration and energy balance: overfeeding and negative energy balance studies in twins. *J Clin Endocrinol Metab*. 86:4547-4551.
23. Schmidt A, Maier C, Schaller G, Nowotny P, Bayerle-Eder M, Buranyi B, Luger A, Wolzt M (2004) Acute exercise has no effect on ghrelin plasma concentrations. *Horm Metab Res*. 36:174-177.
24. Hyun Jun K, Sangyeoup L, Tae Wun K, Hyoung Hoi K, Tae Yong J, Yeong Sook Y, Sang Woo O, Hyun K, Jae Gue L. (2008). Effects of exercise-induced weight loss on acylated and unacylated ghrelin in overweight children. *Clin Endocr*. 68(3): 416-422.

25. Fujimiya M, Asakawa A, Fujino K, Chen C, Inui A (2006) Acylated ghrelin and des-acyl ghrelin exert different effects on the gastrointestinal motility in conscious rats. *International Congress Series*.1287: 361-367.
26. Broom DR, Stensel DJ, Bishop NC, Burns SF, Miyashita M. (2007) Exercise-induced suppression of acylated ghrelin in humans. *J Appl Physiol*. 102(6):2165-71.
27. Mackelvie K J, Meneilly G S, Elahi D, Wong A C., Barr S I, Chanoine JP. (2007) Regulation of Appetite in Lean and Obese Adolescents Following Exercise: Role of Acylated and Desacyl ghrelin. *J Clin Endocrinol Metab*. 92 (2):648-654.
28. Hosoda H, Doi K, Nagaya N, Okumura H, Nakagawa E, Enomoto M, Ono F, Kangawa K. (2004) Optimum collection and storage conditions for ghrelin measurements: octanoyl modification of ghrelin is rapidly hydrolyzed. *Clin Chem*. 50 (6): 1077-80.
29. Considine RV, Sinha MK, Heiman ML, Kriauciunas A, Stephens TW, Nyce MR, Ohannesian JP, Marco CC, McKee LJ, Bauer TL, (1996) Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. *N Engl J Med*. 1; 334(5):292-5.
30. Price GM, Paul AA, Cole TJ, Wadsworth ME (1997) Characteristics of the low-energy reporters in a longitudinal national dietary survey. *Br J Nutr*. 77:833-851.
31. Toshinai K, Yamaguchi H, Sun Y, Smith RG, Yamanaka A, Sakurai T, Date Y, Mondal MS, Shimbara T, Kawagoe T, Murakami N, Miyazato M, Kangawa K, Nakazato M. (2006) Des-acyl ghrelin induces food intake by a mechanism independent of the growth hormone secretagogue receptor. *Endocrinol*. 1479 (5):2306-14.
32. Toshinai K, Date Y, Murakami N, Shimada M, Mondal MS, Shimbara T, Guan JL, Wang QP, Funahashi H, Sakurai T, Shioda S, Matsukura S, Kangawa K, Nakazato M. (2003) Ghrelin-induced food intake is mediated via the orexin pathway. *Endocrinol*. 144(4):1506-12.
33. Asakawa A, Inui A, Fujimiya M, Sakamaki R, Shinfuku N, Ueta Y, Meguid M, Kasuga M (2005) Stomach regulates energy balance via acylated ghrelin and desacyl ghrelin. *Gut*. 54:18-24.
34. Rigamonti AE, Pincelli AI, Corra B, Viaregno R, Bonomo SM, Galimberti D, Scacchi M, Scarpini E, Cavagnini F, Muller EE (2002) Plasma ghrelin concentrations in elderly subjects: comparison with anorexic and obese patients. *J Endocrinol*. 175:R1-R5.
35. Shiiya T, Nakazato M, Mizuta M, Date Y, Mondal MS, Tanaka M, Nozoe S, Hosoda H, Kangawa K, Matsukura S (2002) Plasma ghrelin levels in lean and obese humans and effect of glucose on ghrelin secretion. *J Clin Endocrinol Metab*. 87:240-244.