بهره‌برداری و پرورش آبزیان
جلد دوم، شماره سوم، پاییز ۱۳۹۲
http://japu.gau.ac.ir

بررسی اثرات تزریق گرلین بر فاکتورهای فیزیولوژیکی بچه ماهی تاس ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*)

***حامد کلنگی میاندره[۱]، حمید فرحمند[۲]، مصطفی عقیلی‌نژاد[۳]، علی‌اکبر هدایتی[۱]، عظیم عظیمی[۴] و علی جافرنوده[۴]**

[۱]استادیار گروه شیلات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، [۲]دانشیار گروه شیلات دانشگاه تهران،
[۳]دانشجوی دکتری گروه شیلات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، [۴]دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد،
دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۲/۱۱ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۸/۲۳

چکیده

گرلین یکی از فاکتورهای کلیدی در سیستم کنترل هورمون رشد است و سبب افزایش رهاسازی هورمون رشد می‌گردد. به‌همین منظور اثرات تزریق گرلین سنتتیک بر سطوح هورمون رشد، پرولاکتین، انسولین، گلوکز و TSH در بچه تاس ماهی ایرانی مورد مطالعه قرار گرفت. بچه تاس ماهیان ایرانی (۳۰±۳۲۰ گرم) یک مرحله مورد تزریق گرلین در سه دوز ۰/۱، ۱ و ۱۰ (نانوگرم بر گرم وزن بدن) قرار گرفتند. خون‌گیری از ماهی‌ها در زمان‌های ۰، ۲، ٤، ۸، ٢٤، ٤٨ و ۷۲ ساعت پس از تزریق انجام شد. سطوح هورمون رشد، پرولاکتین، انسولین، گلوکز و TSH پلاسمای خون با استفاده از کیت اندازه‌گیری شدند. سطوح هورمون رشد به‌طور معنی‌داری ۲، ٤ و ۸ ساعت پس از تزریق گرلین در پلاسما افزایش نشان داد ($P<0/05$). تزریق گرلین تأثیر معنی‌داری بر روی سطوح پرولاکتین، نسولین و گلوکز پلاسما نداشت ($P<0/05$). نتایج برای اولین بار در تاس ماهیان گزارش گردید و بیانگر این موضوع می‌باشد که گیرنده‌های مربوط به گرلین در ماهیان خاویاری وجود دارد و نقش گرلین که به‌عنوان عامل کلیدی در رهاسازی هورمون رشد است در ماهیان خاویاری نیز به اثبات می‌رسد.

واژه‌های کلیدی: گرلین، تاس ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*)، فیزیولوژی، هورمون رشد

---

* مسئول مکاتبه: hkolangi@gmail.com

مقدمه

هورمون رشد از سلول‌های سوماتوتروف هیپوفیز قدامی ترشح می‌گردد. این هورمون بر روی رشد بدن، متابولیسم کربوهیدرات، چربی، پروتئین و بالانس انرژی نقش دارد. تولید و رهاسازی هورمون رشد به‌شدت توسط عوامل مختلف کنترل می‌گردد به‌ویژه توسط دو نوروپپتید مترشحه از هیپوتالاموس، GHRH[1] و سوماتوستاتین که به‌ترتیب سبب رهاسازی و مانع ترشح هورمون رشد می‌شوند (پیتر و همکاران، ۲۰۰۵). یکی از فاکتورهایی که اخیراً مورد توجه بیشتری قرار گرفته است محرک هورمون رشد (GHS)[2] می‌باشد. اولین بار بوئرس و همکاران (۱۹۷۷) یک پپتید را که در شرایط آزمایشگاهی سبب رهاسازی هورمون رشد گردید GHS نام‌گذاری نمودند. GHSها عملکرد خود را از طریق رسپتورهای GHS-R1a انجام می‌دهند. بسیاری از محققان لیگاندهای داخلی را برای رسپتورهای GHS-R1a جستجو می‌کردند. در نهایت کوجیما و همکاران (۱۹۹۹) موفق به کشف لیگاند رسپتور GHS-R1a از معده موش و انسان شدند (کوجیما و همکاران، ۱۹۹۹). گرلین[3] دارای ۲۸ اسید آمینه و یک ساختار آمینی در سومین سرین (Ser-3) ترمینال N می‌باشد. براساس عملکرد این پپتید گرلین نام‌گذاری شد که از یک لغت Proto-Indo-European که Ghre به معنی رشد و relin به معنی مواد رها کننده می‌باشد. گرلین یک لیگاند طبیعی برای گیرنده محرک رشد (GHS-R)[4] می‌باشد که دارای نقش اولیه‌ای بر روی رهاسازی هورمون رشد می‌باشد (کوجیما و همکاران، ۱۹۹۹). علاوه‌بر این گرلین دارای چندین نقش بیولوژیک دیگر نیز می‌باشد که درخصوص عمده قابلیت‌های آن تاکنون مطالعه‌ای صورت نیافته است. در مطالعات متعددی اثرات گرلین روی رهاسازی هورمون رشد و پرولاکتین در موجودات غیرپستاندار مورد استفاده قرار گرفتند. تزریق صفاقی KP-102 و گرلین موش باعث افزایش میزان سطوح هورمون رشد در ماهی تیلاپیای نیل (*Oreochromis niliticus*) گشت (ریلی و همکاران، ۲۰۰۲؛ شفرد و همکاران، ۲۰۰۰). هر چند مطالعات دیگر نشان داد که مواد GHS دیگر همچون GHRP-6 و Hexarelin اثری بر روی رهاسازی هورمون رشد در شرایط آزمایشگاهی و در شرایط بدن ماهی کپور علف‌خوار (*Ctenopharyngodon idellus*) ایجاد نکرد (اکسیزو و همکاران، ۲۰۰۲) این نتایج نشان می‌دهد که GHSها یک عملکرد وابسته به گونه دارند. از آن‌جایی که ماهیان خاویاری به‌خصوص تاس ماهی ایرانی از لحاظ رشد و آداپتاسیون محیطی دارای مشکلات فراوانی

1- Growth Hormone Releasing Hormone
2- Growth Hormone Secretagugues
3- Ghrelin
4- Growth Hormone Secretagogue-Receptor

است هدف مطالعه حاضر تعیین عملکرد گرلین و مقایسه آن با ماهیان استخوانی به‌منظور یافتن راهکاری مناسب جهت افزایش کیفیت پرورش و بهینه‌سازی رشد تاس ماهی ایرانی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

ماهیان مورد استفاده در این آزمایش از سالن پرورش ماهی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان تهیه گردید و تمامی مراحل کار در سالن وینرو دانشگاه مذکور صورت پذیرفت. برای این آزمایش سه تیمار و سه تکرار برای هر تیمار درنظر گرفته شد. به‌این منظور تعداد ۱۲ قطعه ماهی قره برون (۳۰±۳۲۰ گرم) به هر تانک ۵۰۰ لیتری معرفی شدند و به‌مدت ۱۰ روز با غذای کنسانتره بیومار فرانسه (۵ درصد وزن بدن) به‌منظور آداپتاسیون با شرایط محیطی جدید تغذیه شدند. دمای آب در طول دوره مطالعه ۲±۱۸ درجه سانتی‌گراد بود. ۲٤ ساعت قبل از آزمایش تغذیه ماهیان متوقف شد. سپس ماهیان جهت تزریق با استفاده از MS 222 (۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر) بیهوش گردیدند و گرلین (Rat Ghrelin, Sigma Aldrich, USA) در سه دوز بالا (۱۰ نانوگرم در گرم)، متوسط (۱ نانوگرم در گرم) و پایین (۰/۱ نانوگرم در گرم) به ماهیان تزریق شد (شفرد و همکاران، ۲۰۰۰). به ماهیان شاهد گرلین تزریق نشد و تنها سرم فیزیولوژیک دریافت نمودند. خونگیری در زمان‌های ۰، ۲، ٤، ۸، ۲٤، ٤۸ و ۷۲ ساعت پس از تزریق گرلین از ساقه دمی ماهیان صورت گرفت. نمونه‌های خون بلافاصله به آزمایشگاه منتقل شده و ۵۰۰۰ دور در دقیقه به‌مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شده و پلاسمای خون جدا شد. نمونه‌های پلاسمای خون جداسازی شده جهت اندازه‌گیری و آنالیز هورمون‌ها به فریزر ۸۰- انتقال داده شد. سطوح هورمون‌های رشد، پرولاکتین و TSH با استفاده از کیت ELISA (Roche, Germany) و همچنین فاکتورهای گلوکز و انسولین نیز با کیت‌های مربوطه اندازه‌گیری شدند (شفرد و همکاران، ۲۰۰۰).

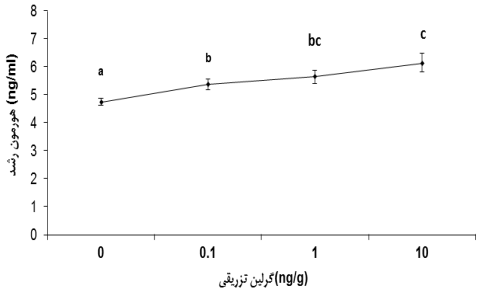
این آزمایش در قالب طرح به‌طور کامل تصادفی انجام شد. برای مقایسه بین تیمارها و نیز وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها در سطح احتمال ۵ درصد از آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون دانکن استفاده گردید. کلیه آنالیزهای آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS (ویرایش ۱۳) و ترسیم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel, 2007 در محیط ویندوز انجام شد.

نتایج

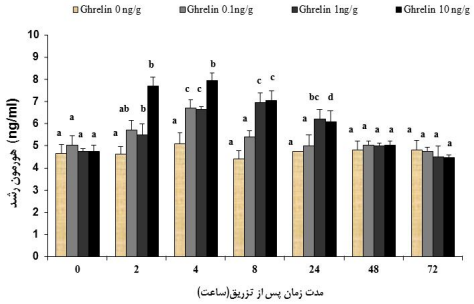
نتایج تزریق گرلین در سطوح مختلف نشان داد که گرلین اثر مثبت بر روی ترشح یا آزادسازی هورمون رشد در تاس ماهی ایرانی دارد. بیشترین میزان ترشح و آزادسازی هورمون رشد در دوز ۱۰

نانوگرم بر گرم وزن بدن مشاهده گردید (P<۰/۰۵). کمترین میزان هورمون رشد در گروه کنترل گزارش گردید. همچنین به‌ترتیب غلظت هورمون رشد براساس غلظت گرلین تزریقی شامل سطح تزریقی ۱، ۱۰ و ۰/۱ نانوگرم بود. اگرچه سطح ۱ از ۰/۱ بیشتر و از ۱۰ کمتر بوده اما از لحاظ آماری اختلاف معنی‌دار با این دو سطح تزریق نشان نداد. (شکل ۱- الف). بیشترین میزان هورمون رشد در سطح ۱۰ نانوگرم مشاهده گردید. افزایش هورمون رشد ۲ ساعت پس از تزریق گرلین شروع شد. در همین زمان سطح تزریقی ۱۰ نانوگرم بر وزن بدن از لحاظ آماری نسبت به دو سطح ۱ و ۰/۱ اختلاف معنی‌داری داشت در صورتی‌که سطح تزریقی ۰/۱ و ۱ با هم اختلاف معنی‌داری نداشتند. بیشترین میزان سطح هورمون رشد در مدت زمان ٤ ساعت پس از تزریق مشاهده گردید. در مدت زمان ٤ ساعت پس از تزریق اختلاف معنی‌داری ما بین دو سطح ۱ و ۰/۱ مشاهده نگردید (P>۰/۰۵). اما این دو سطح اختلاف معنی‌داری با سطح تزریقی ۱۰ داشته‌اند. همان‌طوری که در شکل ۱-ب مشاهده می‌شود افزایش هورمون رشد سطح تزریقی ۱۰ نانوگرم در مدت زمان ۲ و ٤ ساعت اختلاف معنی‌داری نداشتند هر چند سطح رهاشده هورمون رشد در ٤ ساعت پس از تزریق گرلین بیشتر بود. طی مدت زمان ۸ ساعت پس از تزریق سطح ۱۰ و ۱ تزریقی گرلین همچنان سطح هورمون رشد را در حد بالایی حفظ نمودند. اگرچه از لحاظ آماری این دو گروه با هم اختلاف معنی‌داری نداشتند. از طرف دیگر در همین مدت زمان پس از تزریق سطح ۰/۱ فعالیت خود را از دست دادند و سطح هورمون رشد به‌میزان اولیه خود برگشت و اختلاف معنی‌داری با گروه تیمار نداشت. سطح هورمون رشد ٤۸ ساعت پس از تزریق گرلین به حد اولیه خود برگشت (شکل ۱- ب).

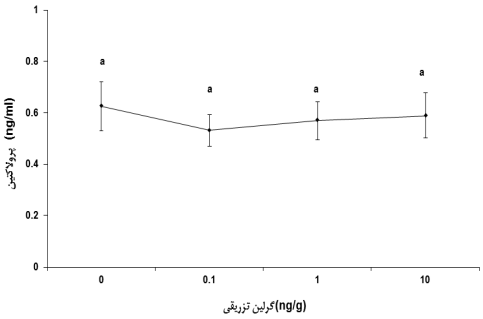
تزریق گرلین در سطوح مختلف ۰/۱، ۱ و ۱۰ نانوگرم بر گرم وزن بدن تغییر سطحی را بر میزان هورمون پرولاکتین در ماهیان تزریق شده نداشت و میزان پرولاکتین اندازه‌گیری شده اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد نداشت (شکل ۲- الف). سنجش میزان پرولاکتین در سطوح مختلف تزریقی ۰/۱، ۱ و ۱۰ نانوگرم بر گرم وزن بدن گرلین و در مدت زمان ۰، ۲، ٤، ۸، ۲٤، ٤۸ و ۷۲ ساعت پس از تزریق تغییر معنی‌داری در سطوح پرولاکتین نشان نداد و از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد نداشت (شکل ۲- ب). سنجش گلوکز و انسولین در ماهیان تزریق شده نشان داد که سطوح گلوکز و انسولین اندازه‌گیری شده اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد نداشته‌اند (شکل ٤- الف و پنج الف). همچنین در طی مدت زمان ۷۲ ساعت پس از تزریق نیز گرلین تأثیری بر روی سطوح گلوکز و انسولین نداشت (شکل ٤- ب و ۵- ب).



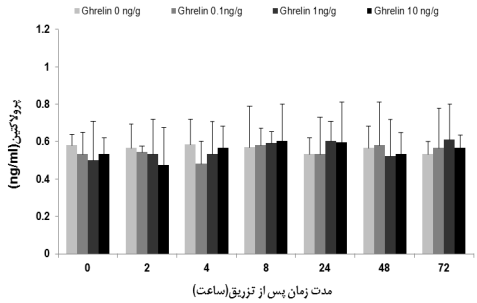
شکل ۱- الف. اثر سطوح مختلف گرلین را بر تغییرات ترشح هورمون رشد.



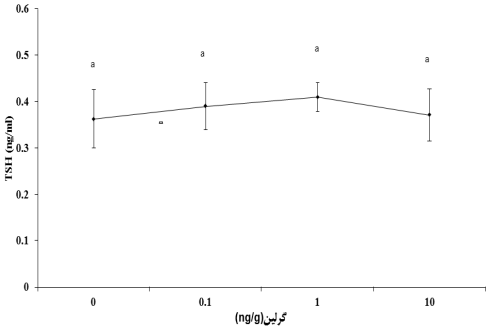
شکل ۱- ب. تغییرات هورمون رشد در سطوح مختلف تزریق گرلین و مدت زمان پس از تزریق.



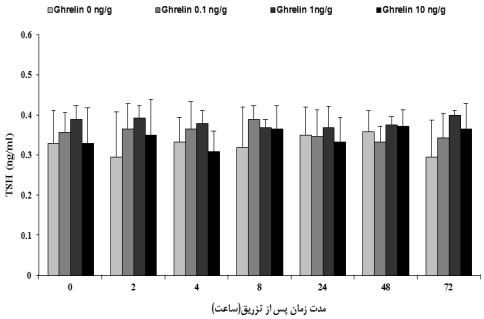
شکل ۲- الف: اثر سطوح مختلف گرلین بر تغییرات ترشح هورمون پرولاکتین



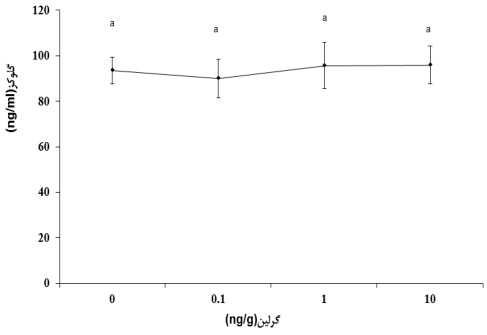
شکل ۲- ب. تغییرات پرولاکتین در سطوح مختلف تزریق گرلین و مدت زمان پس از تزریق.



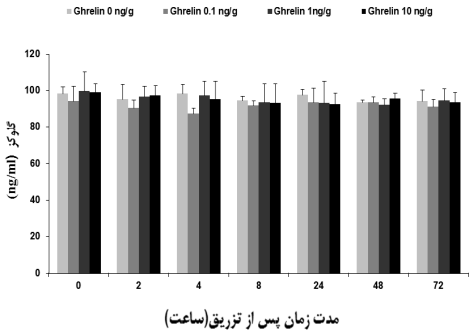
شکل ۳- الف. اثر سطوح مختلف گرلین بر تغییرات ترشح هورمون TSH.



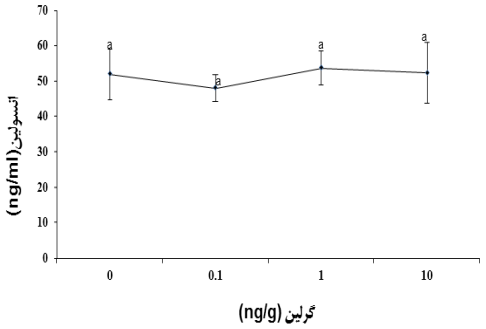
شکل ۳- ب. تغییرات TSH در سطوح مختلف تزریق گرلین و مدت زمان پس از تزریق.



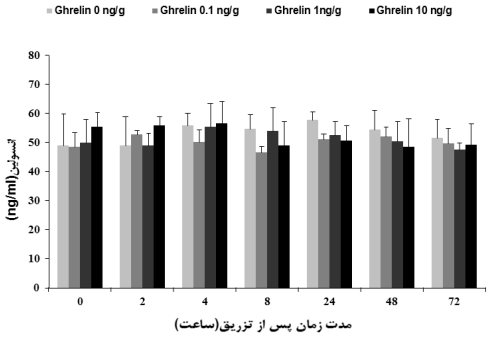
شکل ٤- الف. اثر سطوح مختلف گرلین بر تغییرات ترشح گلوکز.



شکل ٤- ب. تغییرات گلوکز در سطوح مختلف تزریق گرلین و مدت زمان پس از تزریق.



شکل۵- الف. اثر سطوح مختلف گرلین بر تغییرات ترشح انسولین.



شکل ۵- ب. تغییرات انسولین در سطوح مختلف تزریق گرلین و مدت زمان پس از تزریق.

* در شکل‌های سمت راست (ا تا ۵ الف) و شکل‌های سمت چپ (۱ تا ۵ ب) حروف انگلیسی متفاوت بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد می‌باشد (در مواردی که اختلاف معنی‌داری وجود نداشت از حروف انگلیسی استفاده نشد).

بحث

بیش از یک دهه از کشف پپتید گرلین می‌گذرد و در حال حاضر اطلاعات زیادی در مورد فعالیت‌های فیزیولوژیکی پپتید گرلین وجود دارد. پپتید گرلین به‌خاطر فعالیتی که در رهاسازی هورمون رشد و تحریک اشتها داشت مورد شناسایی قرار گرفت ولی امروزه مشخص گردید پپتید گرلین دارای عملکردهای مختلفی می‌باشد. گرلین نه تنها در پستاندارن بلکه در مهره‌داران غیرپستاندار گزارش شده است. اکنون گرلین در ۲۵ گونه از ماهیان استخوانی و غضروفی، پرنده‌گان، خزنده‌گان و پستانداران مورد شناسایی قرار گرفت (کوجیما و همکاران، ۲۰۰۵). دراین مطالعه اثرات پپتید گرلین بر روی

فاکتورهای مختلف همچون هورمون رشد، پرولاکتین، گلوکز، انسولین و TSH مورد بررسی قرار گرفت. تزریق گرلین در سطوح مختلف نشان داد که گرلین اثر مثبت بر روی ترشح یا آزادسازی هورمون رشد در تاس ماهی ایرانی دارد. این یافته بیانگر حضور گیرنده مربوط به گرلین در ماهیان خاویاری می‌باشد. عملکرد گرلین در ماهیان خاویاری از لحاظ تأثیرگذاری بر رهاسازی هورمون رشد همانند عملکرد گرلین بر ماهیان استخوانی، پستاندران و موجودات غیرپستاندار می‌باشد (حسودا و همکاران، ۲۰۰٦؛ پیترز، ۲۰۰۵؛ کوجیما و کانگاوا، ۲۰۰۵؛ وان درللی و همکاران، ۲۰۰٤). مطالعات متعدد انجام شده نشان می‌دهند که گرلین به‌طور مستقیم بر هیپوفیز ماهی، دوزیستان و پرندگان تأثیر می‌گذارد (کایا و همکاران، ۲۰۰۸).

اولین بار رهاسازی هورمون رشد پیش از کشف گرلین با استفاده از GHSها به اثبات رسید، تزریق صفاقی KP-102 که یک نوع GHS است باعث افزایش میزان سطوح هورمون رشد در ماهی تیلاپیای نیل (*Oreochromis niliticus*) گشت (شفرد و همکاران، ۲۰۰۰). هر چند مطالعات دیگر نشان داد که مواد GHS دیگر همچون GHRP-6 و هگزارلین هیچ اثری را بر روی رهاسازی هورمون رشد در شرایط آزمایشگاهی و بدن ماهی کپور علفخوار (*Ctenopharyngodon idellus*) ایجاد نکرد (اکسیزو و همکاران، ۲۰۰۲). تزریق GHRH انسانی (۱۰ نانوگرم به ازای گرم وزن بدن) در هیچ یک از زمان‌های اندازه‌گیری هورمون رشد هیچ‌گونه تغییری ایجاد نکرد (فاکس و همکاران، ۲۰۰۷). این در حالی است که در مطالعت قبلی تزریق GHRH گوساله افزایش معنی‌داری در سطح هورمون رشد پس از ٦ ساعت در تیلاپیا ایجاد نمود، در حالی‌که پس از ۱۲ ساعت هیچ اثری نداشت (شفرد و همکاران، ۲۰۰۰). در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان سطوح هورمون رشد پس از ۰/۵، ۱ و ۳ ساعت پس از تزریق گرلین افزایش نشان داد و پس از ٦ ساعت به سطح ابتدایی خود برمی‌گردد (کایا و همکاران، ۲۰۰۳). تزریق گرلین در گربه ماهی تنها ۱ ساعت پس از تزریق سطح هورمون رشد را افزایش داد (کایا و همکاران، ۲۰۰۵). تزریق گرلین در ماهی گلدفیش سطح هورمون رشد سرم خون را پس از ۱۵ و ۳۰ دقیقه پس از تزریق افزایش داد و پس از این زمان با سطح هورمون رشد در ماهیان کنترل تفاوتی نداشت (پیتر و همکاران، ۲۰۰٤). مطالعات نشان داد که تزریق کوتاه مدت گرلین باعث افزایش سطح mRNA هورمون رشد نمی‌شود اما در مطالعه‌ای دیگر مشخص گردید که تزریق گرلین به‌صورت طولانی مدت به‌مدت ۲۱ روز سبب افزایش میزان mRNA هورمون رشد در ماهی تیلاپیا گشت (ریلی و همکاران، ۲۰۰۰).

نتایج نشان داد که گرلین تزریقی تأثیر معنی‌داری بر میزان ترشح هورمون پرولاکتین در تاس ماهی ایرانی نداشت. با این حال در ماهی تیلاپیا (*Oreochromis mossambicus*) گرلین با منشاء موش، مارماهی ژاپنی (*Anguilla japonica*) سبب افزایش آزادسازی هورمون رشد و پرولاکتین در هیپوفیز گردید (ریلی و همکاران، ۲۰۰۲؛ کایا و همکاران، a,b۲۰۰۳). اگرچه در مطالعه دیگری بی‌تأثیر بودن گرلین بر میزان آزادسازی پرولاکتین از سلول‌های هیپوفیزی تیلاپیا گزارش شده است (فاکس و همکاران، ۲۰۰۷) که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد. در ماهی گلدفیش (*Carassius auratus*) گرلین سنتزی باعث آزادسازی هورمون رشد از سلول‌های هیپوفیز گردید (یونی‌آپان و پیتر، ۲۰۰٤). همچنین فعالیت آزادسازی هورمون رشد از هیپوفیز به‌وسیله گرلین موش در ماهی هامور خال نارنجی (*Epinephelus coioides*) مشاهده شده است. در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) نیز گرلین باعث آزادسازی هورمون رشد شده اما تأثیر بر روی آزادسازی پرولاکتین و سوماتولاکتین در هیپوفیز کشت شده نداشت (کایا و همکاران، c۲۰۰۳). نتایج به‌دست آمده مشابه نتایج ارائه شده در مطالعات متعدد دیگر می‌باشد یعنی گرلین باعث تحریک رهاسازی هورمون رشد می‌گردد و تأثیر چندانی بر ترشح هورمون پرولاکتین ندارد (شفرد و همکاران، ۲۰۰۰) هرچند نتایج به‌دست آمده از تزریق اختصاصی گرلین تاس ماهی ایرانی در پژوهش‌های آینده دقیقاً بیانگر عملکرد صحیح گرلین در تاس ماهی ایرانی می‌باشد. مطالعات دیگر نشان می‌دهد که سطوح چرخش هورمون رشد پس از تزریق صفاقی گرلین سنتتیک KP-102 در ماهی تیلاپیا نیل (*Oreochromis niloticus*) (شفرد و همکاران، ۲۰۰۰)، تزریق درون بطن مغزی و صفاقی گرلین در ماهی گلدفیش (یونی‌آپان و پیتر، ۲۰۰٤)، تزریق صفاقی گرلین در گربه ماهی کانالی (*Ictalurus punctatus*) ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (شفرد و همکاران، ۲۰۰۷؛ کایا و همکاران، ۲۰۰۳) و تزریق صفاقی گرلین ماهی تیلاپیای در ماهی تیلاپیای موزامبیک افزایش نشان داد (فاکس و همکاران، ۲۰۰۷). در حالی‌که مشخص شده که گرلین در بین مهره‌داران اثرات متفاوتی را نشان می‌دهد می‌تواند بیانگر این مطلب باشد که گرلین در بعضی از عملکردها به‌صورت وابسته به گونه فعالیت می‌نماید.

شباهت بالای ساختار ژن، پپتید و گیرنده‌های گرلین و الگوی پراکنش گرلین و گیرنده‌ها و تشابه عملکرد گرلین در بین مهره‌داران نشان می‌دهد که گرلین از لحاظ تکاملی به‌شدت حفاظت شده می‌باشد (کایا و همکاران، ۲۰۱۱). به‌علاوه گرلین به‌طور مستقیم و غیرمستقیم به‌عنوان یک پپتید آندوکرین برای تحریک رهاسازی هورمون رشد اقدام می‌کند. با این حال تعیین مکانیسم تنظیمی آن

در ماهیان خاویاری نیاز به پژوهش‌های بیشتر در آینده دارد. براساس مستندات، مطالعات صورت گرفته و گزارشاتی که تاکنون ارائه شده است باید بیان داشت که تنظیم رهاسازی هورمون رشد عملکرد بسیار مهم گرلین در مهره‌داران می‌باشد. شدت رهاسازی هورمون رشد در اثر تزریق گرلین معنی‌دار است اما سطح هورمون رشد چندان افزایش نیافت که می‌تواند بیانگر این باشد که گرلین در ماهیان خاویاری اختصاصی عمل می‌کند. بنابراین باید از گرلین اختصاصی ماهیان خاویاری استفاده گردد، در همین جهت کلنگی و همکاران (۲۰۱۲) توالی ژن و پپتید اختصاصی تاس ماهی ایرانی را گزارش نمودند، با توجه به عملکرد گرلین و اهمیّت ماهیان خاویاری و به‌خصوص گونه قره برون (*Acipenser persicus*) که از اهمیّت تجاری بالایی برخوردار است مطالعات بیشتری در ارتباط با عملکرد فیزیولوژیکی گرلین و ساختار پپتید و ژن گرلین ضروری می‌باشد.

منابع

1.Bowers, C.Y., Momany, F.A., Reynolds, G.A., Hong, A. 1984. On the in vitro and in vivo activity of a new synthetic hexapeptide that acts on the pituitary to specifically release growth hormone. Endocrinology 114: 1537-1545.

2.Fox, B.K., Riley, L.G., Dorough, C., Kaiya, H., Hirano, T., Grau, E.G. 2007. Effects of homologous ghrelins on the growth hormone/insulin-like growth factor-I in the tilapia (*Oreochromis mossambicus*). Zool. Sci. 24: 391-400.

3.Hosoda, H., Kojima, M., Kangawa, K. 2006. Biological, physiological and pharmacological aspects of ghrelin. J. Pharmacol. Sci. 100: 398-410.

4.Kaiya, H., Kojima, M., Hosoda, H., Riley, L.G., Hirano, T., Grau, E.G., Kangawa, K. 2003a. Amidated fish ghrelin: purification, cDNA cloningin the Japanese eel and its biological activity. J. Endocrinol. 176: 415-423.

5.Kaiya, H., Kojima, M., Hosoda, H., Riley, L.G., Hirano, T., Grau, E.G., Kangawa, K. 2003b. Identification of tilapia ghrelin and its effects on growth hormone and prolactin release in the tilapia (*Oreochromis mossambicus*). Comp. Biochem. Physiol. B. Biochem. Mol. Biol. 135: 421-429.

6.Kaiya, H., Kojima, M., Hosoda, H., Moriyama, S., Takahashi, A., Kawauchi, H., Kangawa, K. 2003c. Peptide purification, cDNA and genomic DNA cloning, and functional characterization of ghrelin in rainbow trout. Endocrinology 144:5215-5226.

7.Kaiya, H., Sakata, I., Kojima, M., Hosoda, H., Sakai, T., Kangawa, K. 2004. Structural determination and histochemical localization of ghrelin in the redeared slider turtle (*Trachemys scripta elegans*). Gen. Comp. Endocrinol. 138: 50-57.

8.Kaiya, H., Small, B.C., Lelania Bilodeau, A., Shepherd, B.S., Kojima, M., Hosoda, H., Kangawa, K. 2005. Purification, cDNA cloning, and characterization of ghrelin in channel catfish (*Ictalurus punctatus*). Gen. Comp. Endocrinol. 143: 201-210.
9.Kojima, M., Kangawa, K. 2005. Ghrelin: structure and function. Physiol. Rev. 85: 495-522.
10.Kojima, M., Hosoda, H., Date, Y., Nakazato, M., Matuso, H., Kangawa, K. 1999. Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide. Nature 402: 656-660.
11.Matsuda, K., Miura, T., Kaiya, H., Maruyama, K., Shimakura, S., Uchiyama, M., Kangawa, K., Shioda, S. 2006a. Regulation of food intake by acyl and des-acyl ghrelins in the goldfish. Peptides 27: 2321-2325.
12.Peeters, T.L. 2005. Ghrelin: a new player in the control of gastrointestinal functions. Gut 54: 1638-1649.
13.Riley, L.G., Hirano, T., Grau, E.G. 2002. Rat ghrelin stimulates growth hormone and prolactin release in the tilapia (*Oreochromis mossambicus*). Zool. Sci. 19: 797-800.
14.Riley, L.G., Fox, B.K., Kaiya, H., Hirano, T., Grau, E.G. 2005. Long-term treatment of ghrelin stimulates feeding, fat deposition, and alters the GH/ IGF-I axis in the tilapia, (*Oreochromis mossambicus*). Gen. Comp. Endocrinol. 142:234-240.
15.Shepherd, B.S., Eckert, S.M., Parhar, I.S., Vijayan, M.M., Wakabayashi, I., Hirano, T., Grau, E.G., Chen, T.T. 2000. The hexapeptide KP-102 (D-ala-Dbeta-Nal-ala-trp-D-phe-lys-NH(2)) stimulates growth hormone release in a cichlid fish (*Oreochromis mossambicus*). J. Endocrinol. 167: R7-R10.
16.Shepherd, B.S., Johnson, J.K., Silverstein, J.T., Parhar, I.S., Vijayan, M.M., McGuire, A., Weber, G.M. 2007. Endocrine and orexigenic actions of growth hormone secretagogues in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Comp. Biochem. Physiol. A. 146: 390-399.
17.Unniappan, S., Peter, R.E. 2004. In vitro and in vivo effects of ghrelin on luteinizing hormone and growth hormone release in goldfish. Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. 286: R1093-R1101.
18.Unniappan, S., Peter, R.E. 2005. Structure, distribution and physiological functions of ghrelin in fish. Comp. Biochem. Physiol. A 140: 396-408.
19.Van der Lely, A.J., Tschöp, M., Heiman, M.L., Ghigo, E. 2004. Biological, physiological, pathophysiological and pharmacological aspects of ghrelin. Endocr. Rev. 25: 426-457.