

علوم زیستی ورزشی _ بهار ۱۳۹۰
شماره ۹ ص ص : ۱۲۵-۱۱۳
تاریخ دریافت : ۸۹ / ۰۲ / ۰۵
تاریخ تصویب : ۸۹ / ۰۵ / ۲۴

تأثیر یک دوره تمرین استقامتی سه هفته‌ای بر سطوح گرلین بافتی و پلاسمایی رت‌های نژاد ویستار

اکرم جعفری^۱ _ محمدرضا مرادی
استادیار دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، استادیار دانشگاه شهرکرد

چکیده

گرلین پپتیدی، اشتهاآور و مترشح از معده است. هدف از تحقیق حاضر، بررسی تأثیر ۳ هفته تمرین استقامتی بر گرلین پلازما و معده و همچنین هورمون‌های کورتیزول و رشد و نیز وزن رت‌های نژاد ویستار است. به این منظور ۲۰ رت نر نژاد ویستار (۱۴-۱۶ هفته‌ای) به طور تصادفی به دو گروه کنترل ($n = 10$) و تجربی ($n = 10$) تقسیم شدند. گروه تجربی با سرعت ۲۵ متر بر دقیقه، ۶۰ دقیقه، ۵ روز در هفته و به مدت ۳ هفته روی تردمیل دویدند. ۴۸ ساعت پس از آخرین مرحله تمرین، رت‌ها در شرایط سیری، بی‌هوش شدند و بافت‌های آنها جدا شد. از آزمون t مستقل برای تحلیل داده‌ها استفاده شد. در گروه تجربی سطوح گرلین پلازما و معده و وزن کمتر و مقدار کورتیزول بیشتر از گروه کنترل بود ($p < 0/05$). احتمالاً تغییرات هورمونی هنگام ورزش بر سازگاری گرلین مؤثر است.

واژه‌های کلیدی

تمرین استقامتی، گرلین، معده، هورمون کورتیزول، هورمون رشد.

مقدمه

گرلین تنها هورمون شناخته شده اشتهاآور معده است. سلول های X/A موجود در معده بیشترین منبع ترشح گرلین پلاسمایی هستند. علاوه بر معده، مشاهده شد که دیگر اندام های دستگاه گوارش (۷، ۲۳، ۲۴) و به ویژه روده کوچک می توانند گرلین تولید کنند (۱). در ابتدا گرلین به عنوان عامل محرک ترشح هورمون رشد معرفی شد (۲۴). بعد از آن محققان دریافتند که گرلین پپتیدی با چند عملکرد است (۲۱). با این حال، بیشتر محققان بر عملکرد گرلین در دریافت غذا، تنظیم وزن، هموستاز انرژی/گلوکز و بافت چربی (۳، ۹، ۲۲، ۳۸) تمرکز داشته اند. نتایج تحقیقات نشان داد که سطوح گرلین پلاسمای در انسان و جوندگان هنگام گرسنگی افزایش و با مصرف غذا کاهش می یابد (۴، ۳۹، ۴۴). همچنین دیده شد که تزریق گرلین می تواند موجب افزایش اشتها و تحریک غذا خوردن شود (۴، ۴۲). علاوه بر اثر گرلین در کنترل کوتاه مدت غذا خوردن، دیگر مطالعات نشان داد که گرلین در تنظیم بلندمدت وزن بدن و هموستاز انرژی نقش دارد. به طور مثال دیده شده که تزریق طولانی مدت گرلین موجب افزایش وزن در جوندگان می شود (۳۹، ۴۳). از طرف دیگر، محققان رابطه معکوسی بین چاقی و مقدار گرلین به دست آوردند، یعنی سطوح گرلین در افراد چاق کم و در افراد با بیماری بی اشتهایی عصبی زیاد است (۳۳، ۳۷، ۴۰). نتایج دیگر تحقیقات نشان داد که سطوح گرلین به دنبال رژیم غذایی، ورزش و کاهش وزن افزایش می یابد (۵، ۱۸، ۳۵).

در مطالعات ورزشی دیده شد که مقدار گرلین پلاسمایی در زمانی که به دنبال تمرین ورزشی، کاهش وزن داشتند، افزایش یافت (۲۷). وانگ (۲۰۰۸) در تحقیق خود نشان داد که ۸ هفته ورزش استقامتی، سبب کاهش مقدار گرلین هیپوتالاموس می شود، اما بر گرلین پلاسمایی اثری ندارد (۴۲). قنبری نیاکی و همکاران (۲۰۰۹) نیز در تحقیقی مشاهده کردند که ۶ هفته تمرین استقامتی به کاهش گرلین پلاسمای و عضله سولئوس رت ها منجر می شود (۱۳). فتحی (۲۰۱۰) در تحقیق خود پس از یک دوره تمرین استقامتی سه ماهه مشاهده کرد که در رت های تمرین کرده ناشتا، مقدار گرلین آسپیل دار معده کاهش می یابد و این کاهش با افزایش گرلین آسپیل دار پلاسمای همراه است (۱۱).

با توجه به اینکه در بیشتر تحقیقات از دوره های زمانی طولانی مانند ۶ (۱۳)، ۸ (۴۱) و ۱۲ هفته (۱۱، ۲۷) استفاده شده است، دانستن اینکه از چه زمانی ورزش می تواند موجب تغییر معنادار در مقدار گرلین شود، به

شناخت بهتر چگونگی عملکرد ورزش بر کنترل اشتها کمک می کند. تحقیقات بسیار کمی درباره سازگاری تمرینات ورزشی با مدت زمان کمتر انجام گرفته است. در چند تحقیق دیده شد که ۳ هفته تمرین استقامتی می تواند موجب تغییر معنادار وزن شود (۲۸، ۳۰، ۳۶). در یکی از آنها دیده شد که این تغییر وزن با کاهش لپتین - یکی دیگر از پپتیدهای مؤثر در کنترل اشتها - همراه است (۳۶). در مورد سازگاری تمرینات کوتاه مدت بر گرلین تنها یک تحقیق انجام گرفت که در آن با وجود کاهش وزن تغییر معناداری در مقدار گرلین بعد از سه هفته تمرین استقامتی مشاهده نشد (۳۰). به نظر می رسد که انجام تحقیقات بیشتر برای درک سازگاری ناشی از ورزش لازم باشد، به همین علت اولین هدف تحقیق حاضر، بررسی تأثیر یک دوره تمرین استقامتی ۳ هفته ای بر مقدار گرلین پلازما و معده رت های نژاد ویستار است. هدف دوم این تحقیق، پاسخ به این پرسش است که آیا تغییر در مقدار گرلین با تغییرات هورمون های رشد و کورتیزول همراه است یا خیر.

روش تحقیق

حیوانات: تحقیق حاضر براساس قوانین ویژه حمایت از حیوانات مورد استفاده در آزمایش های علمی که مورد تایید کمیته اخلاقی دانشکده پزشکی دانشگاه تربیت مدرس است، انجام گرفت. در این تحقیق از ۲۰ رت صحرایی نژاد ویستار ۱۴-۱۲ هفته ای با وزن ۲۲۰-۲۰۰ گرم به عنوان نمونه استفاده شد. این حیوانات از انستیتو پاستور ایران تهیه شدند و در آزمایشگاه حیوانات دانشگاه تربیت مدرس از آنها نگهداری می شد. در هر قفس، ۵ رت قرار داده شد. چرخه نوری رت ها به صورت ۱۲:۱۲ ساعت روشنایی و تاریکی تنظیم شد. دما حدود $22 \pm 1/4$ درجه سانتی گراد و رطوبت حدود $55/6 \pm 4$ درصد تنظیم شد. تغذیه رت ها از طریق غذای مخصوص (به صورت پلت^۱) و آب انجام گرفت. رت ها به صورت تصادفی به دو گروه کنترل ($n=10$) و تجربی ($n=10$) تقسیم شدند.

پروتکل تمرین: برای آشنا ساختن رت ها با دستگاه نوارگردان (مدل ۱۴ کاناله، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی دانشگاه تربیت مدرس، ساخت گروه صنعتی آرین با حداکثر سرعت ۱۰۰ متر در دقیقه، شیب ۱۵ درصد درجه)، به صورت متناوب چهار روز روی نوارگردان مخصوص جوندگان قرار داده شدند. طی این مدت در ابتدا رت ها با

شدت ۱۵-۱۰ متر در دقیقه و به مدت ۱۰ دقیقه روی نوارگردان راه می‌رفتند. به تدریج طی دو هفته شدت و مدت تمرین افزایش یافت. بعد از مرحله آشنایی، رت‌های گروه تجربی به مدت ۳ هفته با سرعت ۲۵ متر در دقیقه به مدت ۶۰ دقیقه بر روی نوارگردان دویدند. با توجه به تحقیقات انجام گرفته این مقدار دویدن معادل ۶۵ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی رت‌ها است (۱۱، ۱۳). در ضمن از مجموع زمان فعالیت، ۱۰ دقیقه برای گرم کردن و ۱۰ دقیقه برای سردکردن رت‌ها در نظر گرفته شد. فعالیت بدنی گروه کنترل نیز هفته‌ای دو یا سه جلسه پیاده‌روی به مدت ۱۰ دقیقه در روز و با سرعت ۱۰ متر در دقیقه بود (۱۱، ۱۴).

جداسازی بافت‌ها و نمونه‌های خونی: چهل و هشت ساعت قبل از کشتن رت‌ها، فعالیت بدنی قطع شد. همچنین برای پیشگیری از احتمال تاثیر دریافت غذا بر گرلین، چهار ساعت پیش از نمونه‌گیری، غذا از دسترس آنها دور شد (۲۲). برای نمونه‌گیری به‌طور متناوب از گروه‌های تجربی و کنترل، رت‌ها انتخاب و با ترکیبی از کتامین^۱ (۵۰-۳۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن) و زیلازین^۲ (۵-۳ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن) بیهوش می‌شدند؛ سپس خون آنها به‌طور مستقیم از قلب با سرنگ کشیده شده و در لوله‌های حاوی EDTA ریخته شد. نمونه‌های جمع‌آوری شده به سرعت به مدت ۱۰ دقیقه و با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. پلاسما به دست آمده در میکروتیوب‌های شماره‌گذاری شده ریخته و به منظور اندازه‌گیری بعدی به فریزر با دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد منتقل شدند.

پس از نمونه‌گیری خونی، شکم رت به سرعت باز شده و قسمت فوقانی معده (فوندوس) برای اندازه‌گیری گرلین جدا شد. نمونه‌ها با محلول سالین شست‌وشو و درون میکروتیوب‌های مخصوصی که مشخصات بافت مورد نظر قبلاً روی آنها یادداشت شده بود، قرار داده شدند. بعد از آن بلافاصله میکروتیوب‌ها در نیتروژن مایع منجمد شده و به فریزر با دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد منتقل و نگهداری شدند. برای اندازه‌گیری غلظت گرلین بافتی، بافت‌ها به وسیله دستگاه هموژنایزر هموژن شده و سوپرناتانت جدا و درون میکروتیوب‌های کدگذاری شده ریخته شد.

1 - Ketamine

2 - Xylazine

غلظت گرلین معده و پلازما: غلظت گرلین معده و پلازما با استفاده از کیت مخصوص رت و از شرکت فونیکس ساخت کشور آمریکا^۱ و به روش آنزیم لینک ایمنواسی (ELISA) و بر اساس دستورالعمل کارخانه سازنده کیت تعیین شد. نتایج آزمایش به وسیله دستگاه ELISA- reader (Ststfax، آمریکا) بررسی شد. ضریب پراکندگی و حساسیت برآورد این روش ۵/۹ درصد و ۴ پیکوگرم در میلی لیتر بود.

غلظت هورمون رشد و کورتیزول: غلظت هورمون رشد و کورتیزول با استفاده از کیت مخصوص^۲ و به روش آنزیم لینک ایمنواسی (ELISA) و براساس دستورالعمل کارخانه سازنده کیت تعیین گردید. نتایج آزمایش توسط دستگاه ELISA- reader (Ststfax، آمریکا) بررسی شد. ضریب پراکندگی و حساسیت برآورد این روش برای هورمون رشد ۸/۲ درصد و ۰/۱۳ نانوگرم در میلی لیتر و برای هورمون کورتیزول ۷/۶ درصد و ۰/۴ میکروگرم بود.

روش های آماری

در پژوهش حاضر برای اندازه گیری تفاوت میانگین ها در گروه های تجربی و کنترل از آزمون t مستقل استفاده شد. همه تجزیه و تحلیل های آماری در سطح معناداری $P < 0/05$ و با نرم افزار SPSS (Version 16) انجام گرفت.

نتایج و یافته های تحقیق

اطلاعات نشان داد که مقدار گرلین پلازما و معده و همچنین وزن گروه تجربی به طور معناداری کمتر و مقدار هورمون کورتیزول بیشتر از گروه کنترل است ($P < 0/05$). همچنین مقدار هورمون رشد بین دو گروه تفاوت معناداری نداشت (جدول ۱).

1 - phonix pharamaseutical, Inc, 330, Beach Road. Burlingame, CA, USA

2 - Diagnostic Systems Laboratories Inc, Texas, USA

جدول ۱- مقادیر غلظت گرلین پلاسمایی و بافتی، هورمون رشد و کورتیزول و وزن رت‌های کنترل و تجربی

متغیرها	گروه کنترل	گروه تجربی	P values
گرلین پلازما (ng/ml)	۸۶/۸۰±۱/۴	۷۹/۴±۲/۶۳	۰/۰۴۱
گرلین معده (ng/ml)	۰/۶۴±۰/۰۳۵	۰/۵۳±۰/۰۱۴	۰/۰۱۴
هورمون رشد (ng/ml)	۹۳/۷۷±۹/۰۱	۱۱۶/۷۱±۱۷/۲۵	۰/۳۴
هورمون کورتیزول (mg/dL)	۱/۴±۰/۲۶	۳/۴±۰/۴۹	۰/۰۲
وزن (g)	۲۴۱±۰/۰۰۵	۲۲۶±۰/۰۰۲	۰/۰۱۹

بحث و نتیجه‌گیری

مهم‌ترین یافته تحقیق حاضر این بود که ۳ هفته تمرین استقامتی می‌تواند به کاهش معنادار گرلین پلازما و معده و همچنین وزن و مقدار کورتیزول رت‌های سیر منجر شود. بین مقدار هورمون رشد دو گروه تفاوت معناداری مشاهده نشد. تحقیقات زیادی درباره تأثیر ورزش استقامتی بر گرلین پلازما انجام گرفته که نتایج تحقیق حاضر با برخی از آنها هماهنگ (۸، ۱۳، ۴۱) و با برخی دیگر در تضاد (۱۲، ۲۷، ۳۰) است. اما درباره تأثیر ورزش بر گرلین معده مطالعات بسیار کمی انجام گرفته است. تحقیقات پیشین نشان داد که تمرین استقامتی می‌تواند موجب سازگاری سیستم‌های بدن و از جمله سیستم گوارش شود (۱۶، ۱۹) به طور مثال قنبری و همکاران (۲۰۰۸) در تحقیقی نشان دادند که یک دوره ورزش استقامتی می‌تواند مقدار ابستاتین (یکی دیگر از پپتیدهای مترشح از معده و موثر بر اشتها) را کاهش دهد (۱۴). همچنین در تحقیقی در زمینه تأثیر ورزش استقامتی بر گرلین آسپیل‌دار معده و پلازما مشاهده شد که سطوح گرلین آسپیل‌دار معده بعد از ورزش استقامتی کاهش می‌یابد (۱۱). به نظر این محققان ورزش می‌تواند موجب ایجاد سازگاری‌هایی در معده شود که در پی آن سنتز و ترشح این پپتیدها کاهش می‌یابد. سازوکاری که از طریق آن تمرین استقامتی می‌تواند گرلین پلازما و معده را تغییر دهد، هنوز ناشناخته است. در تحقیقات پیشین پیشنهاد شد که سنتز و رهایی گرلین از دستگاه گوارش به‌ویژه معده به‌عنوان مهم‌ترین اندام ترشح‌کننده گرلین - می‌تواند توسط برخی هورمون‌ها کنترل و تنظیم شود (مانند انسولین، هورمون رشد، کورتیزول) (۱۶، ۲۳).

کورتیزول، هورمونی کاتابولیک است که موجب افزایش تجزیه چربی و پروتئین و کاهش سنتز آنها می شود. از طرف دیگر، به رهایی اسیدهای چرب و اسیدهای آمینه در گردش خون می انجامد (۲۳). در تحقیقات مختلف دیده شده که کورتیزول بعد از ورزش افزایش می یابد (۱۵، ۱۷، ۲۰، ۲۵) که احتمالاً این موضوع به دلیل تغییر فعالیت اعصاب سمپاتیک و پاراسمپاتیک هنگام ورزش است (۲۹). تحقیقات نشان داده که افزایش کورتیزول می تواند موجب مهار ترشح گرلین شود (۳۳)، این موضوع شاید به دلیل عملکرد متضاد این دو هورمون باشد، چراکه گرلین هورمونی آنابولیک است که ذخیره چربی را افزایش می دهد (۲۳، ۲۴). این موضوع در مطالعات دیگر نیز مشاهده شد، برای مثال در تحقیقی دیده شد که بعد از ورزش، تغییر گرلین با تغییر کورتیزول مرتبط است (۲). در تحقیق دیگری نیز ارتباطی معکوس و قوی بین کورتیزول و گرلین پلازما گزارش شد (۱۰). در تحقیق حاضر این احتمال وجود دارد که یکی از دلایل کاهش گرلین رت های گروه تجربی، افزایش کورتیزول باشد.

مقدار هورمون رشد گروه تجربی بیشتر از گروه کنترل بود، اما از نظر آماری معنادار نبود. در تحقیقی مشاهده شد که افزایش هورمون رشد، اثری مهاری بر ترشح گرلین دارد. در این تحقیق گزارش شد که تمرین زیر بیشینه موجب افزایش معنادار هورمون رشد در بیماران با نقص ترشح این هورمون و همچنین عدم تغییر گرلین می شود. محققان مشاهده کردند که استفاده از هورمون رشد سبب کاهش معنادار گرلین می شود (۶). همچنین در مطالعه ای دیگر نشان داده شد که تزریق هورمون رشد در رت ها موجب کاهش mRNA گرلین معده تا یک سوم و کاهش گرلین پلازما تا حدود ۴۰ درصد می شود (۳۴). افزایش هورمون رشد رت های گروه تجربی معنادار نبود، اما در راستای تحقیقاتی است که افزایش هورمون رشد را بازخوردی منفی برای ترشح گرلین می دانند.

در پژوهش حاضر کاهش گرلین معده با کاهش گرلین پلازما همراه بود. در تحقیقات مختلف، معده مهم ترین اندام ترشح کننده گرلین معرفی شده (۷، ۲۳، ۲۴) و دیده شده است تغییرات گرلین معده تاثیر زیادی بر گرلین پلازما دارد. محققان گزارش کردند که برداشتن معده موجب کاهش گرلین پلازما تا ۸۰ درصد شد که این امر با کاهش وزن همراه بود. در این تحقیق که کاهش وزن در آنها رویت شد، گزارش شد که مقدار کاهش گرلین بعد از جراحی بایپس معده^۱ پیشگوی مناسبی برای مقدار کاهش وزن است (۵). در این تحقیقات پیشنهاد شد که احتمالاً کاهش تولید گرلین معده یکی از دلایل مهم کاهش وزن این افراد است. با توجه به این توضیحات، این

احتمال وجود دارد که در تحقیق حاضر، یکی از دلایل کاهش وزن رت‌های گروه تجربی به دلیل کاهش گرلین معده باشد.

به طور خلاصه این تحقیق جزء اولین تحقیقاتی بود که در آن اثر یک دوره تمرین استقامتی کوتاه مدت ۳ هفته‌ای بر سطوح گرلین پلاسما و معده و همچنین سطوح هورمون‌های کورتیزول و رشد بررسی شد. یافته‌های تحقیق نشان داد که ۳ هفته تمرین استقامتی می‌تواند موجب کاهش وزن و همچنین سازگاری گرلین پلاسما و معده و نیز افزایش سطوح معنادار کورتیزول و افزایش غیرمعنادار هورمون رشد شود. با توجه به تاثیر احتمالی افزایش این هورمون‌ها بر گرلین، پیشنهاد می‌شود که احتمالاً نقش هورمون‌هایی که در زمان ورزش تغییر می‌کنند، در سازگاری گرلین مهم و اثرگذار است. همچنین در این تحقیق بار دیگر اهمیت و نقش گرلین معده به عنوان عاملی اثرگذار بر گرلین پلاسما بیشتر معلوم شد.

منابع و مأخذ

1. Ariyasu H, Takaya K, Tagami T, Ogawa Y, Hosoda K and Akamizu T. (2001). "Stomach is a major source of circulating ghrelin, and feeding state determines plasma ghrelin-like immunoreactivity levels in humans". *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 86: PP: 4753–4758.
2. Cartmill J.A, Thompson D.L, Gentry L.R, Pruet H.E and Johnson C.A. (2003). "Effects of dexamethasone, glucose infusion, adrenocorticotropin, and propylthiouracil on plasma leptin concentrations in horses". *Domestic Animal Endocrinology.* 24: PP:1–14.
3. Cruz SA, Tseng YC, Kaiya H and Hwang PP. (2010). "Ghrelin affects carbohydrate-glycogen metabolism via insulin inhibition and glucagon stimulation in the zebrafish (*Danio rerio*) brain". *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol.* Feb 4. [Epub ahead of print]

4. Cummings D.E, Frayo R.S, Marmonier C, Aubert R and 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: PP: 297–304.
5. Cummings D.E, Weigle D.S, Frayo R.S, Breen P.A, Ma M.K and Dellinger E.P. (2003). "Plasma ghrelin levels after diet-induced weight loss or gastric bypass surgery". *N. Engl. J. Med.* 346: PP:1623–1630.
6. Dall R, Kanaley J and Hansen TK. (2002). "Plasma ghrelin levels during exercise in healthy subjects and in growth hormone-deficient patients". *Eur J Endocrinol.* 147: PP:65–70.
7. Date Y, Nakazato M and Hashguchi S. (2002). "Ghrelin is present in pancreatic alpha-cells of human and rat stimulate insulin secretion". *Diabetes.* 51: PP: 124–129.
8. Ebal E, Cavalie H, Michaux O and Lac G. (2007). "Effect of a moderate exercise on the regulatory hormones of food intake in rats". *Appetite.* 49: PP: 421-444.
9. Epelbaum J, Bedjaoui N and Dardennes R. (2010). "Role of the ghrelin/obestatin balance in the regulation of neuroendocrine circuits controlling body composition and energy homeostasis". *Mol Cell Endocrinol.* 314: PP: 244-7.
10. Espelund U, Hansen T.K and Højlund K. (2005). "Fasting unmasked a strong inverse association between ghrelin and cortisol in serum: studies in obese and normal-weight subjects". *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 90: PP:741–746.
11. Fathi. R, Abbass Ghanbari Niaki.A and Kraemer.R. (2010). "The effect of exercise intensity on plasma and tissue acyl ghrelin concentrations in fasted rats". *Regulatory Peptides.* Article in Press, Uncorrected Proof.
12. Foster-Schubert KE, McTiernan A and Frayo RS. (2005). "Human plasma ghrelin levels increase during a one-year exercise program". *J Clin Endocrinol Metab.* 90: PP: 820-825.

13. Ghanbari-Niaki A, Abednazari H, Tayebi SM, Hossaini-Kakhak A and Kraemer RR. (2009). "Treadmill training enhances rat agouti-related protein in plasma and reduces ghrelin levels in plasma and soleus muscle". *Metabolism*. 58: PP: 1747-52.
14. Ghanbari-Niaki A, Jafari A, Abednazari H and Nikbakht H. (2008). "Treadmill exercise reduces obestatin concentrations in rat fundus and small intestine". *Biochem Biophys Res Commun*. 372: PP: 741-745.
15. Gotshalk L.A, Loebel C.C and Margot N. (1997). "Hormonal responses to multi-set versus single-set heavy-resistance exercise protocols". *Can. J. Appl. Physiol*. 22: PP: 244-255.
16. Hagemann D, Holst J.J, Gethmann A, Banasch M, Schmidt W.E and Meier J.J. (2007). "Glucagon-like peptide 1 (GLP-1) suppresses ghrelin levels in humans via increased insulin secretion". *Regul Pept*. 143: PP: 64-68.
17. Häkkinen K and Pakarinen A. (1993). "Acute hormonal responses to two different fatiguing heavy-resistance protocols in male athletes". *J. Appl. Physiol*. 74: PP: 882-887.
18. Hansen T.K, Dall R, Hosoda H, Kojima M, Kangawa K and Christiansen J.S. (2002). "Weight loss increases circulating levels of ghrelin in human obesity". *Clin. Endocrinol*. 56: PP: 203-206.
19. J.O. Holloszy, (1973). "Biochemical adaptations to exercise: aerobic metabolism". *Exerc Sport Sci Rev*. 1: PP: 45-71.
20. Jürimäe T, Karelson K, Smirnova T and Viru A. (1990). "The effect of a single-circuit weight training session on the blood biochemistry of untrained university students". *Eur. J. Appl. Physiol*. 61: PP: 344-348.
21. Kaiya H, Miyazato M, Kangawa K, Peter RE and Unniappan S. (2008). "Ghrelin: a multifunctional hormone in non-mammalian vertebrates". *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol*. 28: PP: 109-149.

22. Kirchner H, Tong J, Tschöp MH and Pfluger PT. (2010). "Ghrelin and PYY in the Regulation of Energy Balance and Metabolism: Lessons from Mouse Mutants". *Am J Physiol Endocrinol Metab.* Mar 9. [Epub ahead of print]
23. Kojima M and Kangawa K. (2008). "Structure and function of ghrelin". *Results Probl Cell Differ.* 89: PP: 115-46.
24. Kojima M, Hosoda H, Date Y, Nakazato M, Matsuo H and Kangawa K. (1999). "Ghrelin is a growth hormone releasing acylated peptide from stomach". *Nature.* 402: PP: 656-660.
25. Kraemer W.J and Ratamess N.A. (2005). "Hormonal responses and adaptation to resistance exercise and training". *Sports Med.* 40: PP: 339-361.
26. Kraemer W.J, Volek J.S and Bush J.A. (1998). "Hormonal responses to consecutive days of heavy-resistance exercise with or without nutritional supplementation". *J. Appl. Physiol.* 85: PP:354-360.
27. Leidy HJ, Gardner JK and Frye BR. (2004). "Circulating ghrelin is sensitive to changes in body weight during a diet and exercise program in normal-weight young women". *J Clin Endocrinol Metab.* 89: PP: 2659-64.
28. Maffiuletti NA, Agosti F, Marinone PG, Silvestri G, Lafortuna CL and Sartorio A. (2005). "Changes in body composition, physical performance and cardiovascular risk factors after a 3-week integrated body weight reduction program and after 1-y follow-up in severely obese men and women". *Eur J Clin Nutr.* 5: PP: 685-94.
29. McKeever K.H. (2002). "The endocrine system and the challenge of exercise". *Veterinary Clinics of North America Equine Practice.* 18: PP:321-353.
30. Morpurgo P.S, Resnik M, Agosti F, Cappiello V, Sartorio A and Spada A. (2003). "Ghrelin secretion in severely obese subjects before and after a 3-week integrated body mass reduction program". *J Endocrinol Invest.* 8: PP:723-727.

31. Murray R. (2006). "Training the gut for competition". *Curr Sports Med Rep.* 3: PP:161–164.
32. Otto B, Cuntz U, Fruehauf E, Wawarta R, Folwaczny C and Riepl R.L. (2001). "Weight gain decreases elevated plasma ghrelin concentrations of patients with anorexia nervosa". *Eur. J. Endocrinol.* 145: PP: 669–673.
33. Otto B, Tschop M, Heldwein W, feiffer A.F and Diederich S. (2004). "Endogenous and exogenous glucocorticoids decrease plasma ghrelin in humans". *European Journal of Endocrinology.* 151: PP:113–117.
34. Qi X, Reed J, Englander EW, Chandrashekar V, Bartke A and Greeley GH. (2003). "Evidence that growth hormone exerts a feedback effect on stomach ghrelin production and secretion". *Exp Biol Med.* 228: PP:1010–1028.
35. Ravussin E, Tschop M, Morales S, Bouchard C and Heiman M.L. (2001). "Plasma ghrelin concentration and energy balance: overfeeding and negative energy balance studies in twins". *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 6: PP: 4547–4551.
36. Sartorio A, Agosti F, Resnik M and Lafortuna CL. (2003). "Effects of a 3-week integrated body weight reduction program on leptin levels and body composition in severe obese subjects". *J Endocrinol Invest.* 3: PP:250-256.
37. Shimizu Y, Nagaya N, Isobe T, Imazu M, Okumura H and Hosoda. (2003). "Increased plasma ghrelin level in lung cancer cachexia". *Clin. Cancer Res.* 9: PP:774–778.
38. Strassburg S, Anker SD and Castaneda TR. (2008). "Long-term effects of ghrelin and ghrelin receptor agonists on energy balance in rats". *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 295: PP: 78-84.
39. Tschop M, Smiley D.L and Heiman M.L. (2000). "Ghrelin induce adiposity in rodents". *Nature.* 407: PP: 908–913.

40. Tschöp M, Weyer C, Tataranni P.A, Devanarayan V, Ravussin E and Heiman M.L. (2001). "Circulating ghrelin levels are decreased in human obesity". *Diabetes*. 50: PP: 707–709.
41. Wang J, Chen C and Wang RY. (2008). "Influence of short- and long-term treadmill exercises on levels of ghrelin, obestatin and NPY in plasma and brain extraction of obese rats". *Endocrine*. 33: PP:77-83.
42. Wren A.M, Small C.J, Abbott C.R, Dhillon W.S, Seal L.J and Cohen M.A. (2001). "Ghrelin causes hyperphagia and obesity in rats". *Diabetes*. 50: PP: 2540–2547.
43. Wren A.M, Small C.J, Ward H.L, Murphy K.G, Dakin C.L and Taheri S. (2000). "The novel hypothalamic peptide ghrelin stimulates food intake and growth hormone secretion". *Endocrinology*. 141: PP: 4325–4328.
44. Zigman J.M, Nakano Y, Coppari R, Balthasar N, Marcus J.N and Lee C.E. (2005). "Mice lacking ghrelin receptors resist the development of diet-induced obesity". *J. Clin. Invest*. 115: PP: 3564–3572.