

## اثرات پتید شبه-گالانین بر سطح کورتیزول پلازما و اخذ غذای جوجه‌های گوشتی: با تمرکز بر نقش گیرنده‌های سروتونرژیک

الهام سندگل<sup>۱</sup>، مرتضی زنده دل<sup>۲</sup>، بیتا وزیر<sup>۳</sup>، علی رسولی<sup>۴</sup>، هادی حق بین نظرپاک<sup>۵</sup>

- ۱- دانشجوی دکترای تخصصی، گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.
- ۲- استاد گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران. نویسنده مسئول [zendedel@ut.ac.ir](mailto:zendedel@ut.ac.ir)
- ۳- استادیار گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.
- ۴- دانشیار گروه علوم زیستی مقایسه‌ای، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران.
- ۵- استادیار گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۲/۰۶

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۷/۱۴

### چکیده

**زمینه و هدف:** در مطالعات صورت گرفته روی مدل‌ها پستاندار، نقش پتید شبه-گالانین (GALP) در برخی از فرآیندهای فیزیولوژیک همچون تنظیم اخذ غذا مشخص شده است. در این راستا، در مطالعه حاضر ضمن ارزیابی اثرات تزریق مرکزی GALP بر سطح کورتیزول پلازما، به تعاملات آن با گیرنده‌های سروتونرژیک در تنظیم اخذ غذای جوجه‌های گوشتی می‌پردازیم.

**مواد و روش‌ها:** ۱۷۶ قطعه جوجه گوشتی به منظور انجام چهار آزمایش در گروه‌های ۱۱ تایی تقسیم شدند. در آزمایش اول، محلول کنترل و GALP با دوزهای ۰.۵، ۱ و ۲ میکروگرم تجویز شد. در آزمایش دوم نیز محلول کنترل، فلوکستین، GALP و فلوکستین + GALP تزریق شد. آزمایش سوم و چهارم نیز مشابه با آزمایش دوم بودند با این تفاوت که 8-OH-DPAT (آگونیست گیرنده 5-HT<sub>1A</sub>) و SB242084 (آنتاگونیست گیرنده 5-HT<sub>2C</sub>) به ترتیب جایگزین فلوکستین شدند. پس از بازگشت جوجه‌ها به قفس‌هایشان، میزان اخذ غذای تجمعی در بازه‌های زمانی ۳۰، ۶۰ و ۱۲۰ دقیقه پس از تزریق ثبت گشت. در نهایت، از طریق بریدن سر، خونگیری انجام و سطح کورتیزول پلازما در جوجه‌های دریافت‌کننده GALP اندازه‌گیری شد.

**نتایج:** براساس یافته‌ها، تزریق GALP در دوزهای ۱ و ۲ میکروگرم سبب افزایش معنادار اخذ غذا در جوجه‌های گوشتی شد ( $P < 0.05$ ). همچنین، اگرچه تجویز GALP + 8-OH-DPAT تغییر محسوسی در هاپرپفاژی ناشی از GALP ایجاد نکرد، اما تزریق همزمان فلوکستین و SB242084 با GALP سبب تضعیف این اثر هاپرپفاژیک شد ( $P < 0.05$ ). تجویز دوزهای مختلف GALP نیز اثر معنی‌داری بر سطح کورتیزول پلازما بر جای نگذاشت ( $P \geq 0.05$ ).

**نتیجه‌گیری:** نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که اثر هاپرپفاژیک GALP احتمالاً از طریق گیرنده‌های 5-HT<sub>2C</sub> در جوجه‌های گوشتی میانجی‌گری می‌شود.

**کلمات کلیدی:** پتید شبه-گالانین، گیرنده‌های سروتونرژیک، اشتها، جوجه گوشتی

## مقدمه

تنظیم مصرف غذا تعامل پیچیده‌ای از مکانیسم‌ها و واسطه‌هایی را در بر می‌گیرد که تعادل انرژی و ثبات وزن بدن را تضمین می‌کنند. مرکز اصلی انجام این فرآیند، هیپوتالاموس است که سیگنال‌های مختلف را از مراکز محیطی و مرکزی دریافت و ادغام می‌کند (۱). سیگنال‌های محیطی شامل هورمون‌های گوارشی مانند کوله سیستوکینین (CCK) و گرلین هستند که به حضور مواد مغذی و وضعیت انرژی پاسخ می‌دهند و در ایجاد حس گرسنگی و سیری نقش دارند (۲). به‌طور کلی، فرآیندهای دخیل در تنظیم مصرف غذا را می‌توان به مکانیسم‌های کوتاه‌مدت و بلندمدت طبقه‌بندی کرد. تنظیم کوتاه‌مدت در درجه اول توسط پاسخ‌های فیزیولوژیکی فوری به مصرف غذا، مانند اتساع معده و تشخیص مواد مغذی توسط گیرنده‌های شیمیایی در دستگاه گوارش صورت می‌گیرد. این سیگنال‌ها به مغز منتقل شده و سبب ایجاد حس سیری و پایان وعده‌های غذایی می‌شوند (۳). از سوی دیگر، تنظیم بلندمدت تحت تأثیر هورمون‌هایی مانند انسولین و لپتین قرار دارد که منعکس‌کننده ذخایر انرژی بدن هستند. سطح انسولین در پاسخ به دریافت غذا افزایش می‌یابد، درحالی‌که لپتین که توسط بافت چربی تولید می‌شود، مغز را درخصوص ذخایر چربی آگاه می‌کند و در نتیجه اشتها و مصرف انرژی را در طول زمان تعدیل می‌کند (۴). یکی دیگر از مسیرهای دخیل در تنظیم اخذ غذا، محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-آدرنال (HPA) است که با اثر بر گلوکوکورتیکوئیدها در تعیین میزان دریافت غذای پرندگان و پرستاناران به‌ویژه در شرایط استرس‌زا نقش ایفای می‌کند. مطالعات گذشته نیز اثرات کورتیکوسترون و کورتیزول، را بر دریافت غذای پرندگان ثابت کردند (۵-۷). از این‌رو، در کنار شناسایی نقش هورمون‌ها، میانجی‌های عصبی و پپتیدها در تنظیم اخذ غذا و بررسی تداخلات آن‌ها، بررسی اثرات آن‌ها

بر سطح گلوکوکورتیکوئیدها نیز می‌تواند نتایج ارزشمندی را به همراه داشته باشد.

پپتید شبه-گالانین (GALP) که نوروپپتیدی ۶۰ آمینواسیدی است، در سال ۱۹۹۹ در هیپوتالاموس خوک شناسایی شد. GALP ساختار تقریباً مشابهی از نظر توالی آمینواسیدی با گالانین دارد و می‌تواند به سه زیرگروه گیرنده گالانین (GalR1-3) متصل شده و آن‌ها را فعال کند (۸). همچنین حضور دو زیرگروه گیرنده GalR1 و GalR2 در جوجه‌ها نیز گزارش شده است (۹). سلول‌های بیان‌کننده GALP محدود هستند و عمدتاً در هسته کمانی هیپوتالاموس (ARC) و هیپوفیز خلفی یافت می‌شوند (۱۰). نورون‌های GALP در ARC به چندین ناحیه مغزی انشعاب می‌رسانند و به نظر می‌رسد در آن نواحی با سایر میانجی‌های عصبی دارای ارتباط باشند. بر اساس مطالعات انجام‌شده، GALP در تنظیم تغذیه نقش دارد و ممکن است بر سایر رفتارهای فیزیولوژیکی مانند التهاب، رفتار جنسی و استرس نیز اثرگذار باشد (۱۱، ۱۲). مشخص شده است که پس از تجویز GALP به صورت درون بطن مغزی (ICV) در رت، اخذ غذا به مدت یک الی دو ساعت افزایش می‌یابد. عملکرد تقویت‌کننده تغذیه GALP قوی‌تر از گالانین بوده و GALP تقریباً با دوزی یک دهم گالانین اثرات هاپیرفاژیک خود را نشان می‌دهد (۱۳، ۱۴). افزایش اخذ غذای مشاهده‌شده در رت‌های تحت درمان با GALP، در موش‌های سوری بدین شکل نبوده و نشان داده شده است که مصرف غذا و وزن بدن موش‌های سوری ۲۴ ساعت پس از تجویز GALP کاهش می‌یابد (۱۵).

یکی دیگر از مهمترین میانجی‌های عصبی، سروتونین (۵-هیدروکسی تریپتامین، 5HT) است که نقشی چندوجهی در تنظیم فرآیندهای فیزیولوژیکی مختلف، از جمله خلق‌وخو، اشتها و عملکرد دستگاه گوارش ایفای می‌کند (۱۶). سروتونین هم در سیستم عصبی مرکزی (CNS) و

تداخل اثر آن‌ها در سایر عملکردهای فیزیولوژیک همچون تنظیم اشتها نیز وجود دارد (۲۴، ۲۵).

با توجه به مستندات ارائه شده مبنی بر نقش سیستم سروتونرژیک و GALP در تنظیم اخذ غذا و احتمال وجود تداخل اثر میان آن‌ها، مطالعه حاضر برای نخستین بار، به ارزیابی نقش میانجیگری گیرنده‌های سروتونرژیک در تغییرات اخذ غذای ناشی از GALP در جوجه‌های گوشتی پرداخته و اثرات GALP بر سطح کورتیزول پلازما را مورد بررسی قرار می‌دهد.

### مواد و روش‌ها

#### شرایط نگهداری حیوانات و طراحی آزمایش

مطالعه حاضر در مرکز نگهداری حیوانات آزمایشگاهی واقع در آزمایشگاه مرکزی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران انجام شد و تمامی آزمایش‌ها بر اساس اصول موجود در راهنمای مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی (مؤسسه ملی سلامت ایالات متحده آمریکا) و همچنین با رعایت قوانین مصوب کمیته اخلاق حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه آزاد اسلامی صورت گرفت. برای انجام آزمایش‌ها مطالعه حاضر، مجموعاً ۱۷۶ قطعه جوجه گوشتی نژاد راس ۳۰۸ از شرکت ماهان (تهران، ایران) خریداری شد. با حفظ شرایط استاندارد محیطی از نظر روشنایی (۲۳ ساعت روشنایی و ۱ ساعت تاریکی)، دما ( $1 \pm 30$  سانتیگراد) و رطوبت ( $1 \pm 50$  درصد)، جوجه‌ها به مدت دو روز به صورت گروهی و سپس تا روز پنجم در قفس‌های مجزا نگهداری شدند. لازم به ذکر است که در تمامی مراحل آزمایش، آب آشامیدنی و غذا (جیره استارتر استاندارد حاوی ۲۱ درصد پروتئین خام و ۲۸۵۰ کیلوکالری انرژی قابل متابولیسم، شرکت چینه، تهران، ایران) به صورت آزادانه در اختیار جوجه‌ها قرار داشت. مطالعه حاضر بر مبنای انجام چهار آزمایش هر یک شامل چهار گروه آزمونی ( $n = 11$ )، طراحی و اجرا شد. ترتیب گروه‌های آزمایشی و داروهای تزریق شده در جدول ۱- ارائه-

هم در مجرای گوارشی تولید می‌شود. سروتونین در مغز بر خلق و خو، اضطراب و عملکردهای شناختی تأثیری گذارد که این عملکرد، آن را به یک هدف حیاتی برای درمان‌های ضد افسردگی تبدیل می‌کند (۱۷). سیستم سروتونرژیک شامل چندین زیرگروه از گیرنده‌هاست که هر کدام با مسیرهای سیگنال‌دهی و اثرات فیزیولوژیکی مختلفی مرتبط هستند. حداقل ۱۴ گیرنده سروتونینی شناخته شده وجود دارند که در هفت خانواده طبقه‌بندی می‌شوند و بر عملکردهای متنوعی از تنظیم خلق و خو گرفته تا کنترل اشتها و درک درد اثرگذار هستند (۱۸). به عنوان مثال، برخی از گیرنده‌های سروتونین در ایجاد حس سیری نقش دارند، در حالی که برخی دیگر می‌توانند اشتها را تحریک کنند که این تنوع اثرگذاری، پیچیدگی نقش سروتونین در تنظیم مصرف غذا را نشان می‌دهد. بر اساس مطالعات انجام شده روی جوجه‌ها، سروتونین نقشی مهمی در اخذ غذا ایفا می‌کند و این اثرات توسط گیرنده‌های اوپیوئیدرژیک و دوپامینرژیک نیز میانجیگری می‌شوند (۱۹، ۲۰). همچنین مشاهده شده است که اثر کاهندگی اشتها سروتونین توسط آنتاگونیست گیرنده  $\alpha 2$  تقویت می‌شود، در حالی که توسط آنتاگونیست گیرنده  $\beta 2$  تضعیف می‌گردد (۲۱).

پیش از این، گزارش‌هایی مبنی بر برهمکنش‌های میان سیستم سروتونرژیک و GALP در فرآیندهای فیزیولوژیکی مختلف ارائه شده است. محققان دریافته‌اند که تجویز مزمن فلوکستین، به عنوان یک مهارکننده بازجذب سروتونین که معمولاً به عنوان یک داروی ضد افسردگی استفاده می‌شود، سبب تنظیم GALR2 می‌گردد، اما اثری بر GALR1 ندارد (۲۲). همچنین مشخص شده است که انشعابات سروتونرژیک هیپوکامپ در بروز اثرات تعدیل‌کننده تشنج هر دو گیرنده GALR1 و GALR2 نقش دارند (۲۳). علاوه بر این، با توجه به تأیید حضور GALP و پراکنش گیرنده‌های سروتونرژیک در نواحی هیپوتالاموسی همچون هسته کمانی احتمال

دستگاه اکریلیک ثابت شد تا امکان تزریق آزادانه با دست فراهم شود. هنگام تجویز داروها، میکروسرنج همیلتون (سوئیس) تنها ۴ میلی‌متر در ناحیه بطن جانبی راست وارد جمجمه شد و عمق تزریق با قراردادن یک غلاف لوله‌ای پلاستیکی روی سوزن کنترل شد. در تمامی آزمایش‌ها، از سرم فیزیولوژی به همراه اوانس بلو ۰.۱ درصد به‌عنوان گروه کنترل استفاده شد. همچنین سایر داروها نیز با سالین ۰.۸۵ درصد حاوی اوانس بلو رقیق شدند. حجم داروهای تزریقی در همه گروه‌ها برابر با ۱۰ میکرو لیتر بود و دوز داروهای تجویزی نیز بر اساس مطالعات پیشین تعیین شد (۱۴، ۲۷).

شده‌است. داروهای مورد استفاده در این مطالعه شامل GALP، فلوکستین (مهارکننده بازجذب سروتونین)، 8-OH-DPAT (آگونیست گیرنده 5-HT<sub>1A</sub>) و SB242084 (آنتاگونیست گیرنده 5-HT<sub>2C</sub>) بودند که تماماً از شرکت سیگما (آمریکا) خریداری شدند.

### نحوه انجام تزریق ICV

سرانجام در روز پنجم مطالعه، با استفاده از روش پیشنهادی دیویس و همکاران (۱۹۷۹)، جوجه‌ها بدون ایجاد هیچ‌گونه استرس فیزیولوژیکی به صورت ICV تزریق شدند (۲۶). سر جوجه‌ها برای مدت کوتاهی با استفاده از

جدول ۱- گروه‌بندی جوجه‌ها و ترتیب تزریق داروها در هر گروه آزمایشی

گروه‌ها	کنترل	الف	ب	ج
آزمایش اول	سرم فیزیولوژی به همراه اوانس بلو ۰.۱ درصد	GALP (۰.۵ میکروگرم)	GALP (۱ میکروگرم)	GALP (۲ میکروگرم)
آزمایش دوم	سرم فیزیولوژی به همراه اوانس بلو ۰.۱ درصد	Fluoxetine (۱۰ میکروگرم)	GALP (۲ میکروگرم)	Fluoxetine + GALP
آزمایش سوم	سرم فیزیولوژی به همراه اوانس بلو ۰.۱ درصد	8-OH-DPAT (۱۵.۲۵ نانومول)	GALP (۲ میکروگرم)	8-OH-DPAT + GALP
آزمایش چهارم	سرم فیزیولوژی به همراه اوانس بلو ۰.۱ درصد	SB242084 (۱.۵ میکروگرم)	GALP (۲ میکروگرم)	SB242084 + GALP

جوجه‌های شرکت‌کننده در آزمایش اول خونگیری شد. همچنین با هدف تأیید صحت تزریق، مغز تمامی جوجه‌ها جدا شده و بررسی شد. چنانچه رنگ اوانس بلو در محل تزریق مشاهده نمی‌شد، داده‌های مربوط به آن جوجه حذف شده و مورد تحلیل آماری قرار نمی‌گرفت. به‌منظور سنجش سطح کورتیزول پلازما، خون جمع‌آوری شده، در شرایط استاندارد و با استفاده از تیوپ‌های مخصوص انتقال یافتند. سپس نمونه‌های خون سانتریفیوژ شده (۳۰۰۰ دور در دقیقه) و در دمای ۲۰- سانتریگراد نگهداری شدند. در نهایت،

### اندازه‌گیری اخذ غذای تجمعی و سطح کورتیزول

#### پلازما

پس از انجام هر تزریق جوجه‌ها فوراً به قفس‌های انفرادی خود منتقل شده و دسترسی آزاد به آب و غذا برای آن‌ها فراهم شد. سپس به منظور سنجش میزان اخذ غذای تجمعی در بازه‌های زمانی ۳۰، ۶۰ و ۱۲۰ دقیقه پس از تزریق مقدار جیره مصرفی جوجه‌ها اندازه‌گیری شده و به عنوان درصدی از وزن بدن محاسبه شد تا تأثیر وزن بر تغذیه به حداقل میزان برسد. در مرحله نهایی، با قطع سر از

پلات ترسیم شدند. لازم به ذکر است، سطح معنی‌داری اختلافات میان گروه‌ها  $P < 0.05$  در نظر گرفته شد.

### نتایج

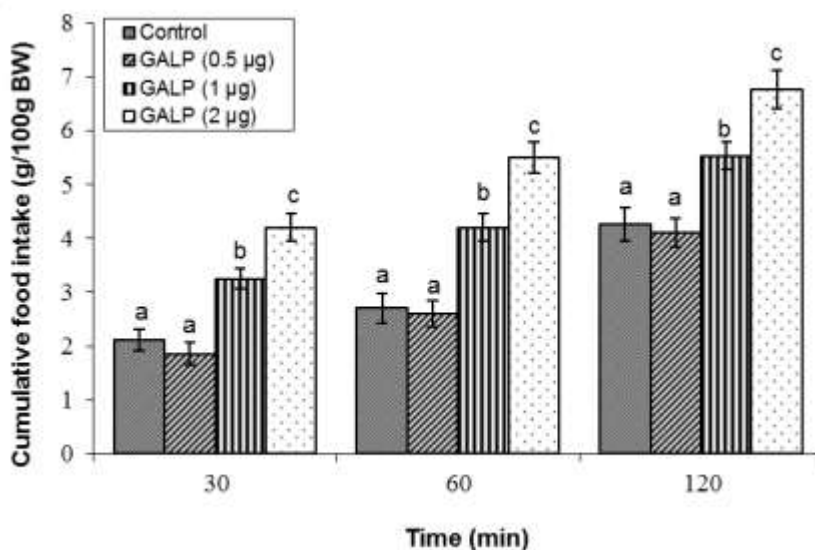
#### اخذ غذا

مطابق با نتایج قابل مشاهده در نمودار ۱، تزریق GALP با دوز ۰.۵ میکروگرم سبب ایجاد تغییر محسوسی در اخذ غذای جوجه‌های گوشتی نشد ( $P \geq 0.05$ )، با این حال تجویز دوزهای بالاتر آن (۱ و ۲ میکروگرم) افزایش معناداری در مصرف خوراک جوجه‌ها در مقایسه با گروه کنترل ایجاد نمود ( $P < 0.05$ ).

سنجش سطح کورتیزول پلازما با استفاده از دستورالعمل کالیچاران و هال (۱۹۸۱) به روش رادیوایمونواسی (Radioimmunoassay) و بر اساس پروتکل سازنده کیت سنجش کورتیزول (New England Nuclear، آمریکا) صورت گرفت (۲۸).

### تحلیل آماری

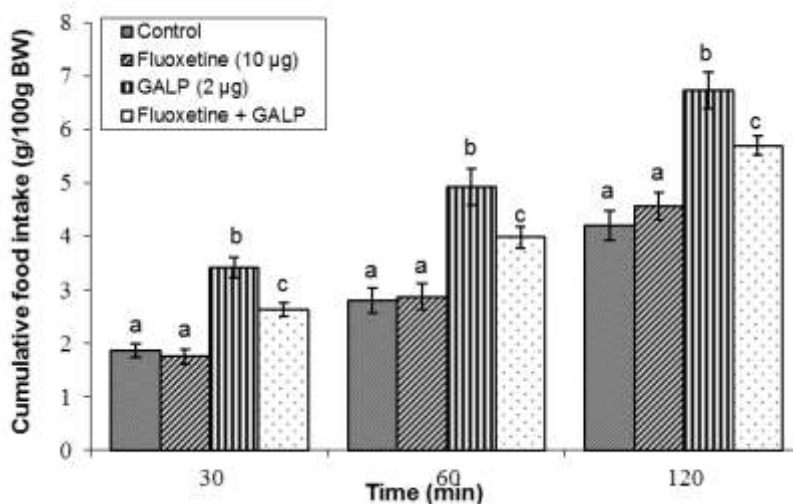
آنالیز نتایج این مطالعه، با استفاده از نرم افزار SPSS (نسخه ۱۶.۰۰) صورت گرفت. همچنین از روش تحلیل واریانس دوطرفه و تست تعقیبی توکی به منظور ارزیابی اختلاف معنادار بین گروه‌های آزمایشی استفاده شد. نمودارهای مطالعه حاضر نیز با استفاده از نرم‌افزار سیگما



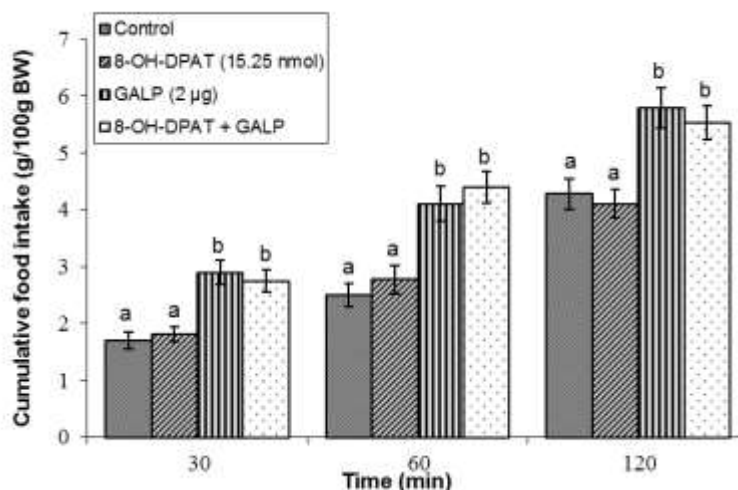
نمودار ۱- اثر تزریق داخل بطنی مغزی دوزهای مختلف GALP (۰.۵، ۱ و ۲ میکروگرم) بر اخذ غذای جوجه‌های گوشتی. مقادیر بصورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار ارائه شده است. حروف مختلف (a, b, c) بیانگر اختلاف معنی‌دار از گروه کنترل هستند ( $P < 0.05$ ).

در آزمایش سوم، نه تنها تزریق جداگانه دوز تحت اثر-8 OH-DPAT (۱۵.۲۵ نانومول) تغییر معنی‌داری در اخذ غذای جوجه‌ها ایجاد نمود ( $P \geq 0.05$ )، بلکه تزریق آن به همراه GALP نیز، نتوانست سبب بروز تغییر محسوسی در هایپرفاژی ناشی از GALP شود (نمودار ۳) ( $P \geq 0.05$ ).

در آزمایش دوم، اگرچه تزریق دوز تحت اثر فلوکستین (۱۰ میکروگرم) تغییر معناداری را در اخذ غذای جوجه‌ها به همراه نداشت ( $P \geq 0.05$ )، اما تجویز همزمان آن با GALP سبب سرکوب معنادار هایپرفاژی ناشی از GALP شد (نمودار ۲) ( $P < 0.05$ ).



نمودار ۲- اثر تزریق داخل بطنی مغزی فلوکستین (۱۰ میکروگرم)، GALP (۲ میکروگرم) و فلوکستین + GALP بر اخذ غذای جوجه‌های گوشتی. مقادیر به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار ارائه شده است. حروف مختلف (a و b و c) بیانگر اختلاف معنی دار از گروه کنترل هستند ( $P < 0.05$ ).



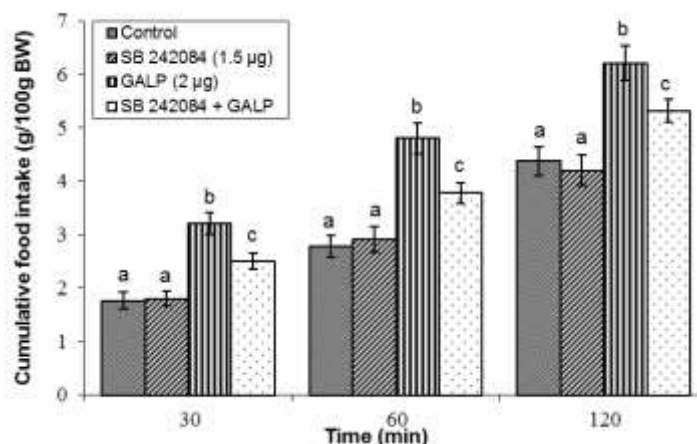
نمودار ۳- اثر تزریق داخل بطنی مغزی 8-OH-DPAT (۱۵.۲۵ نانومول)، GALP (۲ میکروگرم) و 8-OH-DPAT + GALP بر اخذ غذای جوجه‌های گوشتی. مقادیر به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار ارائه شده است. حروف مختلف (a و b) بیانگر اختلاف معنی دار از گروه کنترل هستند ( $P < 0.05$ ).

### سطح کورتیزول پلازما

با توجه به یافته‌های ارائه شده در جدول ۲، تزریق ICV دوزهای مختلف GALP (۰.۵، ۱ و ۲ میکروگرم) نتوانست تغییر معنی داری در سطح کورتیزول پلازما در مقایسه با گروه کنترل ایجاد نماید ( $P \geq 0.05$ ).

بر اساس نتایج آزمایش چهارم نیز، تفاوت معناداری در مصرف خوراک جوجه‌ها متعاقب تجویز دوز تحت اثر SB242084 (۱.۵ میکروگرم) مشاهده نشد ( $P \geq 0.05$ )، با این وجود تزریق توامان SB242084 و GALP هاپرفاژی ناشی از GALP را تضعیف نمود (نمودار ۴) ( $P < 0.05$ ).





نمودار ۴- اثر تزریق داخل بطنی مغزی SB242084 (۱.۵ میکروگرم)، GALP (۲ میکروگرم) و SB242084 + GALP بر اخذ غذای جوجه‌های گوشتی. مقادیر به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار ارائه شده است. حروف مختلف (a, b, c) بیانگر اختلاف معنی‌دار از گروه کنترل هستند ( $P < 0.05$ ).

جدول ۲- سطح کورتیزول پلازما (نانوگرم / میلی‌لیتر) در گروه‌های آزمایشی دریافت‌کننده GALP

سطح کورتیزول پلازما (نانوگرم / میلی‌لیتر)	گروه‌های آزمایشی
$0.74 \pm 0.27$	کنترل
$0.67 \pm 0.28$	GALP (۰.۵ میکروگرم)
$0.72 \pm 0.25$	GALP (۱ میکروگرم)
$0.69 \pm 0.21$	GALP (۲ میکروگرم)

پرداختیم. بر اساس یافته‌های به دست آمده، تزریق GALP در دوزهای ۱ و ۲ میکروگرم سبب افزایش محسوس اخذ غذا در جوجه‌های گوشتی می‌شود. محققان پیش‌تر نشان دادند که GALP در فرآیندهای فیزیولوژیکی مختلف، به ویژه در تنظیم اشتها، مصرف انرژی و عملکردهای عصبی غدد درون‌ریز نقش دارد (۲۹). GALP اثرات خود را از طریق تعامل با گیرنده‌های متصل به پروتئین G (GPCRs)، به ویژه خانواده GalR اعمال می‌کند. این گیرنده‌ها واسطه اعمال فیزیولوژیکی متنوع GALP هستند و آن را به مسیرهای سیگنالی تنظیم‌کننده عملکردهای بدن، مرتبط می‌سازند (۳۰). هم تجویز GALP و هم

## بحث

میزان مصرف غذا توسط عوامل مختلفی از جمله سیگنال‌های هورمونی یا عصبی، حالات روانی و تأثیرات محیطی تنظیم می‌گردد. درک این تعاملات برای توسعه مداخلات مؤثر با هدف بهبود عادات غذایی و رسیدگی به عوارض مربوط به چاقی و اختلالات تغذیه‌ای ضروری می‌باشد. علاوه بر این، شناسایی این مسیرها امکان ایجاد اصلاحات ژنتیکی کارآمد با هدف افزایش تولیدات دامی را فراهم می‌کند. در مسیر شناسایی عوامل دخیل در تنظیم اخذ غذا، در مطالعه حاضر به بررسی تداخل اثر میان GALP و سیستم سروتونرژیک در جوجه‌های گوشتی

آزمایش‌ها پیشین بارها نقش سروتونین و گیرنده‌های آن در تنظیم اخذ غذا گزارش شده‌است. هنگامی که سروتونین به صورت ICV تجویز می‌شود، می‌تواند با تعدیل فعالیت گیرنده‌های سروتونینی خاص در مغز، به‌طور قابل توجهی بر مصرف غذا تأثیر بگذارد (۲۵، ۳۲). مشخص شده‌است که فعال‌شدن گیرنده‌های 5-HT<sub>2C</sub> در هیپوتالاموس باعث کاهش اشتها می‌گردد (۳۳). تحریک این گیرنده باعث مهار آزادسازی دوپامین از نورون‌هایی تقویت‌کننده تغذیه می‌شود و به‌طور مؤثر سیگنال‌های گرسنگی را کاهش می‌دهند. برعکس، مسدودشدن این گیرنده‌ها می‌تواند منجر به افزایش مصرف غذا شود، زیرا در این شرایط بدن توانایی کمتری در تشخیص علائم سیری دارد (۲۰، ۳۴).

در خصوص تداخل اثر میان GALP و سیستم سروتونرژیک، مشخص شده‌است که نورون‌های GALP هم گیرنده‌های Y1 و هم گیرنده‌های 5-HT<sub>2C</sub> را در هیپوتالاموس بیان می‌کنند (۳۵). این امر نشان می‌دهد که نورون‌های GALP تحت تأثیر سیگنال‌های متابولیکی قرار می‌گیرند که از طریق این گیرنده‌ها منتقل می‌شوند و پیام‌های دریافتی را برای تعدیل مصرف انرژی و عملکردهای تولیدمثلی ادغام می‌کنند. مطالعات پیشین نشان دادند که بیان mRNA ژن GALP نسبت به حالات متابولیکی حساس است. به‌عنوان مثال، روزه‌داری و به‌طور کلی محرومیت غذایی بیان GALP را کاهش می‌دهد، که به نظر می‌رسد این رخداد با تغییرات در سیگنال‌دهی سروتونین مرتبط باشد (۳۶). به‌طور خاص، اثر سروتونین بر گیرنده‌های 5-HT<sub>2C</sub> در نورون‌های GALP ممکن است در اثرات بی‌اشتهایی مشاهده‌شده در طول روزه‌داری نقش داشته‌باشد. از سوی دیگر، مشخص شده‌است که انشعابات سروتونرژیک هیپوکامپ در بروز اثرات تعدیل‌کننده تشنج هر دو گیرنده GalR1 و GalR2 نقش دارند (۲۳). مطالعات ایمونوهیستولوژیک و بیوشیمیایی متعاقب نشان داده‌است که

گالانین در هسته مجاوربطنی (PVN) سطوح در گردش هورمون محرک تیروئید (TSH) را سرکوب می‌کند (۳۰، ۳۱). اثرات GALP بر مصرف وعده غذایی در رت‌ها و موش‌های سوری به‌طور گسترده‌ای مورد مطالعه قرار گرفته‌است. بر اساس تحقیقات پیشین، هنگامی که GALP در PVN رت‌های سیر تجویز می‌شود، مصرف غذا را به‌طور قابل توجهی تا یک ساعت پس از تجویز افزایش می‌دهد (۳۱). در آزمایش‌های مقایسه‌ای، اثرات افزایش اشتها قوی‌تر GALP نسبت به گالانین ثابت شده‌است که نقش ویژه آن را در خانواده پپتیدهای گالانینی برجسته می‌کند (۱۴). درحالی‌که گالانین ۲-۲۹، یک آگونیست انتخابی GalR2، تأثیری بر تغذیه ندارد، اثرگذاری GALP در شرایط مختلف آزمایشی قوی گزارش شده‌است (۳۱). اثرات GALP بر مصرف خوراک در موش‌های سوری به‌طور قابل توجهی با رت‌ها متفاوت است. و در آن‌ها، تزریق GALP همان اثرات هایپرفازیک حاد مشاهده شده در رت‌ها را ایجاد نمی‌کند. در عوض، GALP پس از تجویز مزمن در موش‌های سوری سبب کاهش گدرا در وزن بدن و مصرف وعده غذایی می‌شود (۱۵). یافته‌های مطالعه حاضر، مطابق با آزمایش‌های گذشته روی رت‌ها، اثرات هایپرفازیک متعاقب تجویز مرکزی GALP را در جوجه‌های گوشتی پنج روزه نشان داد. تفاوت در پاسخ مشاهده‌شده در مطالعه حاضر و آزمایش‌های انجام‌شده بر روی موش‌های سوری، پیچیدگی فعل و انفعالات نوروپپتیدی را در تنظیم اشتها در گونه‌های مختلف نشان می‌دهد و می‌تواند تا حدی با دوز تجویز شده و دوره زمانی آزمایش نیز مرتبط باشد.

در مطالعه کنونی با توجه به این امر که فلوکستین (مهارکننده بازجذب سروتونین)، 8-OH-DPAT (آگونیست گیرنده 5-HT<sub>1A</sub>) و SB242084 (آنتاگونیست گیرنده 5-HT<sub>2C</sub>) در دوزهای تحت اثر تزریق شدند، تجویز مستقل آن‌ها اثری به همراه نداشته‌است. با این حال در



آدرنال انسان و آزادسازی کورتیکوسترون را از سلول‌های قشر آدرنال رت‌ها تحریک می‌کند (۴۱، ۴۲). البته به نظر می‌رسد بیان mRNA ژن GALP در هسته کمافی هیپوتالاموس تحت تأثیر عوامل منعکس کننده وضعیت متابولیک، مانند ناشتایی و سطح لپتین، به جای گلوکوکورتیکوئیدها یا استروئیدهای جنسی در گردش باشد (۴۳). تفاوت‌های مشاهده شده در تحقیقات، می‌تواند ریشه در اختلافات ژنتیکی میان پرندگان و پستانداران و مسیرهای تنظیمی متنوع عصبی و هورمونی آن‌ها داشته باشد. هرچند انجام آزمایش‌ها آتی به منظور شناخت دقیق اثرات فیزیولوژیک متنوع GALP الزامی می‌باشد.

#### نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج حاصل از مطالعه کنونی، تجویز GALP اثر معنی‌داری بر سطح کورتیزول پلازما نداشته اما سبب افزایش اخذ غذا در جوجه‌های گوشتی می‌گردد. همچنین به نظر می‌رسد این اثر هایپرفازیک از طریق گیرنده‌های 5-HT<sub>2C</sub> سروتونرژیک میانجیگری شود. با توجه به محدود بودن مطالعات انجام شده روی اثرات فیزیولوژیک GALP، انجام تحقیقات آتی و بررسی تداخل اثر این پپتید با سایر سیستم‌ها می‌تواند به درک بهتر نقش آن در تنظیم اخذ غذا کمک کند.

#### تشکر و قدردانی

بدین وسیله نویسندگان، از همکاری آزمایشگاه مرکزی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران در به انجام رساندن این پژوهش تشکر و قدردانی می‌کنند.

#### تعارض منافع

نویسندگان این مقاله تعارضی در منافع ندارند.

اثرات GalR1 بر تشنج با کاهش سروتونین در هیپوکامپ مرتبط است، درحالی‌که مهار تشنج توسط GalR2 با افزایش غلظت سروتونین همراه می‌باشد (۳۷). جالب توجه است که تجویز مزمن فلوکستین، سبب تنظیم GalR2 می‌گردد، اما اثری بر GalR1 ندارد (۲۲). با توجه به پراکنش گیرنده‌های سروتونرژیک و GALP در نواحی هیپوتالاموسی همچون هسته کمافی احتمال تداخل اثر آن‌ها در سایر عملکردهای فیزیولوژیک همچون تنظیم اشتها قوت می‌گیرد (۲۵، ۳۸). در این مطالعه نیز هم‌راستا با آزمایش‌ها قبلی، نقش میانجیگری گیرنده‌های 5-HT<sub>2C</sub> در بروز اثرات هایپرفازیک GALP مشاهده شد. به این صورت که اگرچه تزریق همزمان آگونیست گیرنده 5-HT<sub>1A</sub> + GALP تغییر معنی‌داری در هایپرفازی ناشی از GALP ایجاد ننمود، با این حال تزریق فلوکستین و آنتاگونیست گیرنده 5-HT<sub>2C</sub> به همراه GALP سبب تضعیف اثرات افزایشنده اخذ غذای GALP شد.

از سوی دیگر در مطالعه حاضر، تزریق دوزهای مختلف GALP (۰.۵، ۱ و ۲ میکروگرم) تغییر معنی‌داری در سطح کورتیزول پلازما ایجاد ننمود. تحقیقات پیشین نشان داده‌اند که mRNA این پپتید و گیرنده‌های آن (GalR1، GalR2 و GalR3) در هیپوتالاموس، هیپوفیز و غدد فوق کلیوی رت‌ها بیان می‌شوند که نقش بالقوه GALP را در تنظیم محور HPA نشان می‌دهد (۳۹). در یک آزمایش، تجویز داخل صفاقی (IP) حاد GALP در رت‌ها منجر به تغییراتی در بیان ژن‌های محور HPA و آنزیم‌های استروئیدوزن در هیپوتالاموس، هیپوفیز و غدد فوق کلیوی شد (۴۰). مشخص شده است که گالانین، که شباهت فراوانی با GALP دارد، ترشح کورتیزول را از سلول‌های قشر

## فهرست منابع

1. Meister B. Control of food intake via leptin receptors in the hypothalamus. 2000.
2. Strader AD, Woods SC. Gastrointestinal hormones and food intake. *Gastroenterology*. 2005;128(1):175-91.
3. Anderson GH, Woodend D. Consumption of sugars and the regulation of short-term satiety and food intake. *The American journal of clinical nutrition*. 2003;78(4):843S-9S.
4. Van Itallie T, Smith N, Quartermain D. Short-term and long-term components in the regulation of food intake: evidence for a modulatory role of carbohydrate status. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 1977;30(5):742-57.
5. Yuan L, Lin H, Jiang K, Jiao H, Song Z. Corticosterone administration and high-energy feed results in enhanced fat accumulation and insulin resistance in broiler chickens. *British poultry science*. 2008;49(4):487-95.
6. Eikenaar C, Bairlein F, Stöwe M, Jenni-Eiermann S. Corticosterone, food intake and refueling in a long-distance migrant. *Hormones and behavior*. 2014;65(5):480-7.
7. Landys MM, Ramenofsky M, Guglielmo CG, Wingfield JC. The low-affinity glucocorticoid receptor regulates feeding and lipid breakdown in the migratory Gambel's white-crowned sparrow *Zonotrichia leucophrys gambelii*. *Journal of Experimental Biology*. 2004;207(1):143-54.
8. Ohtaki T, Kumano S, Ishibashi Y, Ogi K, Matsui H, Harada M, et al. Isolation and cDNA cloning of a novel galanin-like peptide (GALP) from porcine hypothalamus. *Journal of Biological Chemistry*. 1999;274(52):37041-5.
9. Ho JCW, Jacobs T, Wang Y, Leung FC. Identification and characterization of the chicken galanin receptor GalR2 and a novel GalR2-like receptor (GalR2-L). *General and comparative endocrinology*. 2012;179(2):305-12.
10. Zhu S, Hu X, Bennett S, Charlesworth O, Qin S, Mai Y, et al. Galanin family peptides: Molecular structure, expression and roles in the neuroendocrine axis and in the spinal cord. *Frontiers in Endocrinology*. 2022;13:1019943.
11. Fraley G, Thomas-Smith S, Acohido B, Steiner R, Clifton D. Stimulation of sexual behavior in the male rat by galanin-like peptide. *Hormones and behavior*. 2004;46(5):551-7.
12. Kauffman AS, Buenzle J, Fraley GS, Rissman EF. Effects of galanin-like peptide (GALP) on locomotion, reproduction, and body weight in female and male mice. *Hormones and behavior*. 2005;48(2):141-51.
13. Matsumoto Y, Watanabe T, Adachi Y, Itoh T, Ohtaki T, Onda H, et al. Galanin-like peptide stimulates food intake in the rat. *Neuroscience letters*. 2002;322(1):67-9.
14. Lawrence C, Baudoin FH, Luckman S. Centrally administered galanin-like peptide modifies food intake in the rat: a comparison with galanin. *Journal of neuroendocrinology*. 2002;14(11):853-60.
15. Kageyama H, Shiba K, Hirako S, Wada N, Yamanaka S, Nogi Y, et al. Anti-obesity effect of intranasal administration of galanin-like peptide (GALP) in obese mice. *Scientific reports*. 2016;6(1):28200.
16. MAEDA T, FUJIMIYA M, KITAHAMA K, IMAI H, KIMURA H. Serotonin neurons and their physiological roles. *Archives of Histology and Cytology*. 1989;52(Supplement):113-20.

17. Artigas F. Serotonin receptors involved in antidepressant effects. *Pharmacology & therapeutics*. 2013;137(1):119-31.
18. Pytliak M, Vargová V, Mechírová V, Felsöci M. Serotonin receptors-from molecular biology to clinical applications. *Physiological research*. 2011;60(1):15.
19. Rahmani B, Mahdavi K, Zendedel Kheybari M, Khodadadi M, Keshavarz M, Shahabi M, et al. Role of central opioid receptors on serotonin-Induced hypophagia in the neonatal broilers. *Iranian Journal of Veterinary Science and Technology*. 2022;14(1):9-19.
20. Zendehtdel M, Hasani K, Babapour V, Mortezaei SS, Khoshbakht Y, Hassanpour S. Dopamine-induced hypophagia is mediated by D1 and 5HT-2c receptors in chicken. *Veterinary research communications*. 2014;38:11-9.
21. Zendehtdel M, Sardari F, Hassanpour S, Rahnema M, Adeli A, Ghashghayi E. Serotonin-induced hypophagia is mediated via  $\alpha_2$  and  $\beta_2$  adrenergic receptors in neonatal layer-type chickens. *British poultry science*. 2017;58(3):298-304.
22. Lu X, Barr AM, Kinney JW, Sanna P, Conti B, Behrens MM, et al. A role for galanin in antidepressant actions with a focus on the dorsal raphe nucleus. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2005;102(3):874-9.
23. Gariboldi M, Tutka P, Samanin R, Vezzani A. Stimulation of 5-HT<sub>1A</sub> receptors in the dorsal hippocampus and inhibition of limbic seizures induced by kainic acid in rats. *British journal of pharmacology*. 1996;119(5):813-8.
24. Juréus A, Cunningham MJ, Li D, Johnson LL, Krasnow SM, Teklemichael DN, et al. Distribution and regulation of galanin-like peptide (GALP) in the hypothalamus of the mouse. *Endocrinology*. 2001;142(12):5140-4.
25. Meguid MM, Fetissov SO, Varma M, Sato T, Zhang L, Laviano A, et al. Hypothalamic dopamine and serotonin in the regulation of food intake. *Nutrition*. 2000;16(10):843-57.
26. Davis JL, Masuoka DT, Gerbrandt LK, Cherkin A. Autoradiographic distribution of L-proline in chicks after intracerebral injection. *Physiology & Behavior*. 1979;22(4):693-5.
27. Najafi E, Mahdavi K, Zendehtdel M, Khodadadi M. Central serotonergic system mediates Neuromedin S (NMS) induced hypophagia in layer-type chicken. *Journal of Poultry Sciences and Avian Diseases*. 2023;1(2):9-17.
28. Kalliecharan R. The influence of exogenous ACTH on the levels of corticosterone and cortisol in the plasma of young chicks (*Gallus domesticus*). *General and Comparative Endocrinology*. 1981;44(2):249-51.
29. Marcos P, Coveñas R. Neuropeptidergic control of feeding: Focus on the galanin family of peptides. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021;22(5):2544.
30. Shioda S, Kageyama H, Takenoya F, Shiba K. Galanin-like peptide: a key player in the homeostatic regulation of feeding and energy metabolism? *International journal of obesity*. 2011;35(5):619-28.
31. Seth A, Stanley S, Dhillon W, Murphy K, Ghatei M, Bloom S. Effects of galanin-like peptide on food intake and the hypothalamo-pituitary-thyroid axis. *Neuroendocrinology*. 2003;77(2):125-31.
32. Lam DD, Garfield AS, Marston OJ, Shaw J, Heisler LK. Brain serotonin system in the coordination of food intake and body weight. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 2010;97(1):84-91.
33. d'Agostino G, Lyons D, Cristiano C, Lettieri M, Olarte-Sanchez C, Burke

- LK, et al. Nucleus of the solitary tract serotonin 5-HT<sub>2C</sub> receptors modulate food intake. *Cell metabolism*. 2018;28(4):619-30. e5.
34. Blundell JE, Lawton CL, Halford JC. Serotonin, eating behavior, and fat intake. *Obesity research*. 1995;3(S4):471S-6S.
35. Cunningham MJ, Shahab M, Grove KL, Scarlett JM, Plant TM, Cameron JL, et al. Galanin-like peptide as a possible link between metabolism and reproduction in the macaque. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2004;89(4):1760-6.
36. Lawrence C, Fraley GS. Galanin-like peptide (GALP) is a hypothalamic regulator of energy homeostasis and reproduction. *Frontiers in neuroendocrinology*. 2011;32(1):1-9.
37. Xu Z-Q, Zhang X, Pieribone V, Grillner S, Hökfelt T. Galanin-5-hydroxytryptamine interactions: electrophysiological, immunohistochemical and in situ hybridization studies on rat dorsal raphe neurons with a note on galanin R1 and R2 receptors. *Neuroscience*. 1998;87(1):79-94.
38. Larm JA, Gundlach AL. Galanin-like peptide (GALP) mRNA expression is restricted to arcuate nucleus of hypothalamus in adult male rat brain. *Neuroendocrinology*. 2000;72(2):67-71.
39. Tyczewska M, Milecka P, Szyszka M, Celichowski P, Jopek K, Komarowska H, et al. Expression profile of Galp, alarin and their receptors in rat adrenal gland. *Advances in Clinical and Experimental Medicine*. 2019;28(6):737-46.
40. Tyczewska M, Szyszka M, Jopek K, Ruciński M. Effects of Galp and alarin peptides on HPA axis gene expression and adrenal function: In vivo experiments. *Advances in Clinical and Experimental Medicine*. 2022;31(6):643-54.
41. Tortorella C, Neri G, Nussdorfer GG. Galanin in the regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *International journal of molecular medicine*. 2007;19(4):639-47.
42. Belloni AS, Malendowicz LK, Rucinski M, Guidolin D, Nussdorfer GG. Galanin stimulates cortisol secretion from human adrenocortical cells through the activation of galanin receptor subtype 1 coupled to the adenylate cyclase-dependent signaling cascade. *International journal of molecular medicine*. 2007;20(6):859-64.
43. Kumano S, Matsumoto H, Takatsu Y, Noguchi J, Kitada C, Ohtaki T. Changes in hypothalamic expression levels of galanin-like peptide in rat and mouse models support that it is a leptin-target peptide. *Endocrinology*. 2003;144(6):2634-43.



## Effects of galanin-like peptide on plasma cortisol levels and feed intake of broiler chickens: focusing on the role of serotonergic receptors

Elham Sanadgol<sup>1</sup>, Morteza Zendehdel<sup>2</sup>, Bita Vazir<sup>3</sup>, Ali Rassouli<sup>4</sup>, Hadi Haghbin nazarpak<sup>5</sup>

1- PhD student, Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

2- Professor, Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran. Corresponding Author: [zendedel@ut.ac.ir](mailto:zendedel@ut.ac.ir)

3- Assistant Professor, Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

4- Associate Professor, Department of Comparative Biosciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran.

5- Assistant Professor, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Received:2024.06.26

Accepted: 2024.09.15

### Abstract

**Background & Aim:** In the studies conducted on mammalian models, the role of galanin-like peptide (GALP) in some physiological processes such as the regulation of food intake has been determined. In this regard, in the present study, while evaluating the effects of central injection of GALP on the plasma cortisol level, we discuss its interaction with serotonergic receptors in the regulation of food consumption in broiler chickens.

**Materials & methods:** 176 broiler chickens were divided into groups of 11 to perform four experiments. In the first experiment, the control solution and GALP with doses of 0.5, 1 and 2 µg were administered. In the second experiment, the control solution, fluoxetine, GALP and fluoxetine + GALP were injected. The third and fourth tests were similar to the second test, with the difference that 8-OH-DPAT (5-HT<sub>1A</sub> receptor agonist) and SB242084 (5-HT<sub>2C</sub> receptor antagonist) were replaced by fluoxetine, respectively. After the chicks returned to their cages, the cumulative food intake was recorded at 30, 60 and 120 minutes after injection. Finally, by cutting the head, blood was collected and plasma cortisol levels were measured in chickens receiving GALP.

**Results:** Based on the findings, injection of GALP in doses of 1 and 2 µg significantly increased food intake in broilers ( $P < 0.05$ ). Also, although the administration of 8-OH-DPAT + GALP did not significantly change the hyperphagia induced by GALP, the simultaneous injection of fluoxetine and SB242084 with GALP attenuated this hyperphagic effect ( $P < 0.05$ ). Administering different doses of GALP also had no significant effect on plasma cortisol levels ( $P \geq 0.05$ ).

**Conclusion:** The results of this study showed that the hyperphagic effect of GALP is probably mediated through 5-HT<sub>2c</sub> receptors in broilers.

**Key words:** Galanin-like peptide, Serotonergic receptors, Appetite, Broiler