اثرات پپتید شبه-گالانین بر سطح کوتیزول پلاسما و اخذ غذای جوجه‌های گوشتی: با تمرکز بر نقش گیرنده‌های سروتونرژیک

الهام سندگل[1]، **مرتضی زنده دل**[2]، بیتا وزیر[3]، علی رسولی[4]، هادی حق بین نظرپاک[5]

1-دانشجوی دکترای تخصصی، گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

2- استاد گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران. نویسنده مسئول zendedel@ut.ac.ir

3- استادیار گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

4- دانشیار گروه علوم زیستی مقایسه‌ای، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران.

5- استادیارگروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

چکیده

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

مواد و روش‌ها: 176 قطعه جوجه گوشتی به منظور انجام چهار آزمایش در گروه‌های 11 تایی تقسیم‌شدند. در آزمایش اول، محلول کنترل و GALP با دوزهای 0.5، 1 و 2 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 (اگونیست گیرنده 5-HT_{1A}) و SB242084 (آنتاگونیست گیرنده 5-HT_{2C}) به ترتیب جایگزین فلوکستین شدند. پس از بازگشت جوجه‌ها به قفس‌هایشان، میزان اخذ غذای تجمعی در بازه‌های زمانی 30، 60 و 120 دقیقه پس از تزریق ثبت گشت. در نهایت، از طریق بریدن سر، خونگیری انجام و سطح کورتیزول پلاسما در جوجه‌های دریافت‌کننده GALP اندازه-گیری‌شد.

نتایج: براساس یافته‌ها، تزریق GALP در دوزهای 1 و 2 میکروگرم سبب افزایش معنادار اخذ غذا در جوجه‌های گوشتی شد ($P<0.05$). همچنین، اگرچه تجویز GALP + 8-OH-DPAT تغییر محسوسی در هایپرفاژی ناشی از GALP ایجاد نکرد، اما تزریق همزمان فلوکستین و SB242084 با GALP سبب تضعیف این اثر هایپرفاژیک شد ($P<0.05$). تجویز دوزهای مختلف GALP نیز اثر معنی‌داری بر سطح کورتیزول پلاسما بر جای نگذاشت ($P\geq0.05$).

نتیجه‌گیری: نتایج حاصل از این مطالعه نشان‌داد که اثر هایپرفاژیک GALP احتمالاً از طریق گیرنده‌های 5-HT_{2c} در جوجه‌های گوشتی میانجیگری می‌شود.

کلمات کلیدی: پپتید 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 ادغام‌می‌کند (1). سیگنال‌های محیطی شامل هورمون‌های گوارشی مانند کوله سیستوکینین (CCK) و گرلین هستند که به حضور مواد مغذی و وضعیت انرژی پاسخ‌می‌دهند و در ایجاد حس گرسنگی و سیری نقش دارند (2). به‌طور کلی، فرآیندهای دخیل در تنظیم مصرف غذا را می‌توان به مکانیسم‌های کوتاه‌مدت و بلندمدت طبقه‌بندی کرد. تنظیم کوتاه مدت در درجه اول توسط پاسخ‌های فیزیولوژیکی فوری به مصرف غذا، مانند اتساع معده و تشخیص مواد مغذی توسط گیرنده‌های شیمیایی در دستگاه گوارش صورت‌می‌گیرد. این سیگنال‌ها به مغز منتقل‌شده و سبب ایجاد حس سیری و پایان وعده‌های غذایی می‌شوند (3). 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 افزایش‌می‌یابد، درحالی‌که لپتین که توسط بافت چربی تولیدمی‌شود، مغز را درخصوص ذخایر چربی آگاه‌می‌کند و درنتیجه اشتها و مصرف انرژی را در طول زمان تعدیل‌می‌کند (4). 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 پستانداران به‌ویژه در شرایط استرس‌زا نقش ایفامی‌کند. مطالعات گذشته نیز اثرات کورتیکوسترون و کورتیزول، را بر دریافت غذای پرندگان ثابت‌کردند (5-7). ازاین‌رو، 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 داشته‌باشد.

پپتید شبه-گالانین (GALP) که نوروپپتیدی 60 آمینواسیدی است، در سال 1999 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) متصل‌شده و آن‌ها را فعال‌کند (8). همچنین حضور دو زیرگروه گیرنده GalR1 و GalR2 در جوجه‌ها نیز گزارش شده‌است (9). سلول‌های بیان‌کننده GALP محدود هستند و عمدتاً در هسته کمانی هیپوتالاموس (ARC) و هیپوفیز خلفی یافت می‌شوند (10). 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 (11, 12). مشخص‌شده‌است 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 هایپرفاژیک خود را نشان‌می‌دهد (13, 14). افزایش اخذ غذای مشاهده‌شده در رت‌های تحت درمان با GALP، در موش‌های سوری بدین شکل نبوده و نشان‌داده‌شده‌است که مصرف غذا و وزن بدن موش‌های سوری 24 ساعت پس از تجویز GALP کاهش می‌یابد (15).

یکی دیگر از مهمترین میانجی‌های عصبی، سروتونین (5-هیدروکسی تریپتامین، 5HT) است که نقشی چندوجهی در تنظیم فرآیندهای فیزیولوژیکی مختلف، از جمله خلق‌وخو، اشتها و عملکرد دستگاه گوارش ایفامی‌کند (16). سروتونین هم در سیستم عصبی مرکزی (CNS) و هم در مجرای گوارشی تولیدمی‌شود. سروتونین در مغز بر خلق‌وخو، اضطراب و عملکردهای شناختی تأثیرمی‌گذارد که این عملکرد، آن را به یک هدف حیاتی برای درمان‌های ضد افسردگی تبدیل‌می‌کند (17). سیستم سروتونرژیک شامل چندین زیرگروه از گیرنده‌هاست که هرکدام با مسیرهای سیگنال‌دهی و اثرات فیزیولوژیکی مختلفی مرتبط

هستند. حداقل 14 گیرنده سروتونینی شناخته‌شده وجوددارند که در هفت خانواده طبقه‌بندی می‌شوند و بر عملکردهای متنوعی از تنظیم خلق‌وخو گرفته تا کنترل اشتها و درک درد اثرگذار هستند (18). به عنوان مثال، برخی از گیرنده‌های سروتونین در ایجاد حس سیری نقش دارند، درحالی‌که برخی دیگر می‌توانند اشتها را تحریک‌کنند که این تنوع اثرگذاری، پیچیدگی نقش سروتونین در تنظیم مصرف غذا را نشان‌می‌دهد. بر اساس مطالعات انجام شده روی جوجه‌ها، سروتونین نقشی مهاری در اخذ غذا ایفامی‌کند و این اثرات توسط گیرنده‌های اوپیوئیدرژیک و دوپامینرژیک نیز میانجیگری می‌شوند (19, 20). همچنین مشاهده‌شده‌است که اثر کاهندگی اشتها سروتونین توسط آنتاگونیست گیرنده α2 تقویت می‌شود، در حالی که توسط آنتاگونیست گیرنده β2 تضعیف می‌گردد (21).

پیش از این، گزارش‌هایی مبنی بر برهمکنش‌های میان سیستم سروتونرژیک و GALP در فرآیندهای فیزیولوژیکی مختلف ارائه‌شده‌است. محققان دریافتند که تجویز مزمن فلوکستین، به‌عنوان یک مهارکننده بازجذب سروتونین که معمولاً به عنوان یک داروی ضد افسردگی استفاده‌می‌شود، سبب تنظیم GalR2 می‌گردد، اما اثری بر GalR1 ندارد (22). همچنین مشخص‌شده‌است که انشعابات سروتونرژیک هیپوکامپ در بروز اثرات تعدیل‌کننده تشنج هر دو گیرنده GalR1 و GalR2 نقش دارند (23). علاوه‌بر این، با توجه به تائید حضور GALP و پراکنش گیرنده‌های سروتونرژیک در نواحی هیپوتالاموسی همچون هسته کمانی احتمال تداخل اثر آن‌ها در سایر عملکردهای فیزیولوژیک همچون تنظیم اشتها نیز وجوددارد (24, 25).

با توجه به مستندات ارائه‌شده 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 پلاسما را مورد بررسی قرارمی‌دهد.

مواد و روش‌ها

شرایط نگهداری حیوانات و طراحی آزمایش

مطالعه حاضر در مرکز نگهداری حیوانات آزمایشگاهی واقع در آزمایشگاه مرکزی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران انجام‌شد و تمامی آزمایش‌ها بر اساس اصول موجود در راهنمای مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی (مؤسسه ملی سلامت ایالات متحده امریکا) و همچنین با رعایت قوانین مصوب کمیته اخلاق حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه آزاد اسلامی صورت‌گرفت. برای انجام آزمایش‌ها مطالعه حاضر، مجموعاً 176 قطعه جوجه گوشتی نژاد راس 308 از شرکت ماهان (تهران، ایران) خریداری شد. با حفظ شرایط استاندارد محیطی از نظر روشنایی (23 ساعت روشنایی و 1 ساعت تاریکی)، دما (1± 30 سانتیگراد) و رطوبت (1±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 21 درصد پروتئین خام و 2850 کیلوکالری انرژی قابل متابولیسم، شرکت چینه، تهران، ایران) به‌صورت آزادانه در اختیار جوجه‌ها قرارداشت. مطالعه حاضر بر مبنای انجام چهار آزمایش هر یک شامل چهار گروه آزمونی (n= 11)، طراحی و اجرا شد. ترتیب گروه‌های آزمایشی و داروهای تزریق‌شده در جدول-1 ارائه‌شده‌است. داروهای مورد استفاده در این مطالعه شامل GALP، فلوکستین (مهارکننده بازجذب سروتونین)، 8-OH-DPAT (آگونیست گیرنده 5-HT_{1A}) و SB242084 (آنتاگونیست گیرنده 5-HT_{2C}) 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 (1979)، جوجه ها بدون ایجاد هیچ‌گونه استرس فیزیولوژیکی به صورت ICV تزریق‌شدند (26). سر جوجه‌ها برای مدت کوتاهی با استفاده از دستگاه اکریلیک ثابت شد تا امکان تزریق آزادانه با دست فراهم‌شود. هنگام تجویز داروها، میکروسرنگ همیلتون (سوئیس) تنها 4 میلی‌متر در ناحیه بطن جانبی راست وارد جمجمه شد و عمق تزریق با قراردادن یک غلاف لوله‌ای پلاستیکی روی سوزن کنترل‌شد. در تمامی آزمایش‌ها، از سرم فیزیولوژی به همراه اوانس بلو 0.1 درصد به‌عنوان گروه کنترل استفاده‌شد. همچنین سایر داروها نیز با سالین 0.85 درصد حاوی اوانس بلو رقیق شدند. حجم داروهای تزریقی در همه گروه‌ها برابر با 10 میکرو لیتر بود و دوز داروهای تجویزی نیز بر اساس مطالعات پیشین تعیین‌شد (14, 27).

جدول 1- گروه‌بندی جوجه‌ها و ترتیب تزریق داروها در هر گروه آزمایشی

گروه‌ها	کنترل	الف	ب	ج
آزمایش اول	سرم فیزیولوژی به همراه اوانس بلو 0.1 درصد	GALP (0.5 میکروگرم)	GALP (1 میکروگرم)	GALP (2 میکروگرم)
آزمایش دوم	سرم فیزیولوژی به همراه اوانس بلو 0.1 درصد	Fluoxetine (10 میکروگرم)	GALP (2 میکروگرم)	Fluoxetine + GALP
آزمایش سوم	سرم فیزیولوژی به همراه اوانس بلو 0.1 درصد	8-OH-DPAT (15.25 نانومول)	GALP (2 میکروگرم)	8-OH-DPAT + GALP
آزمایش چهارم	سرم فیزیولوژی به همراه اوانس بلو 0.1 درصد	SB242084 (1.5 میکروگرم)	GALP (2 میکروگرم)	SB242084 + GALP

اندازه‌گیری اخذ غذای تجمعی و سطح کورتیزول پلاسما

پس از انجام هر تزریق جوجه‌ها فوراً به قفس‌های انفرادی خود منتقل‌شده و دسترسی آزاد به آب و غذا برای آن‌ها فراهم شد. سپس به منظور سنجش میزان اخذ غذای تجمعی در بازه‌های زمانی 30، 60 و 120 دقیقه پس از تزریق مقدار جیره مصرفی جوجه‌ها اندازگیری‌شده و به عنوان درصدی از وزن بدن محاسبه‌شد تا تأثیر وزن بر تغذیه به حداقل میزان برسد. در مرحله نهایی، با قطع سر از جوجه‌های شرکت‌کننده در آزمایش اول خونگیری شد. همچنین با هدف تائید صحت تزریق، مغز تمامی جوجه‌ها جدا شده و بررسی‌شد.. چنانچه رنگ اوانس بلو در محل تزریق مشاهده‌نمی‌شد، داده‌های مربوط به آن جوجه حذف شده و مورد تحلیل آماری قرار نمی‌گرفت. به‌منظور سنجش سطح کورتیزول پلاسما، خون جمع‌آوری‌شده، در شرایط استاندارد و با استفاده از تیوپ‌های مخصوص انتقال یافتند. سپس نمونه‌های خون سانتریفیوژ شده (3000 دور در دقیقه) و در دمای

20- سانتیگراد نگهداری شدند. در نهایت، سنجش سطح کورتیزول پلاسما با استفاده از دستورالعمل کالیچاران و هال (1981) به روش رادیوایمونواسی (Radioimmunoassay) و بر اساس پروتکل سازنده کیت سنجش کورتیزول (New England Nuclear، آمریکا) صورت‌گرفت (28).

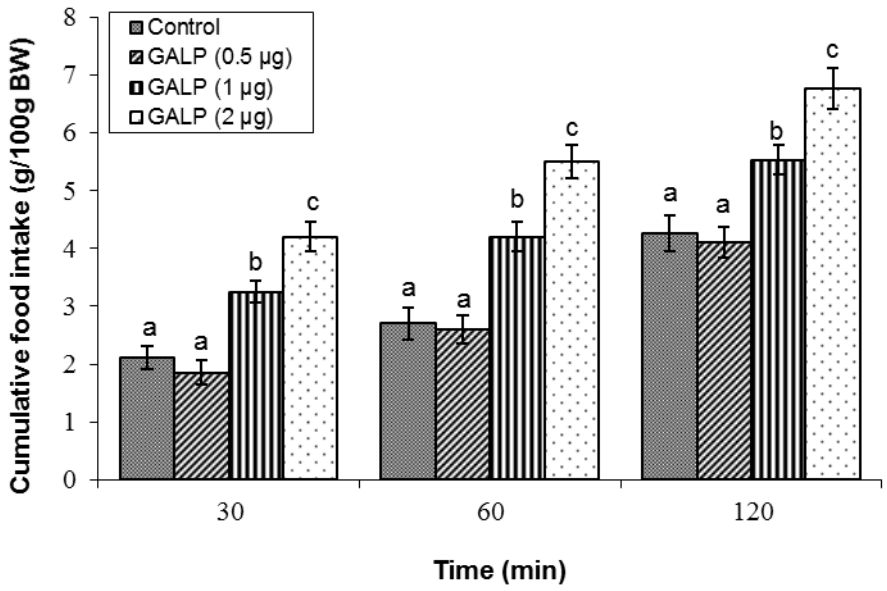
تحلیل آماری

آنالیز نتایج این مطالعه، با استفاده از نرم افزار SPSS (نسخه 16.00) صورت‌گرفت. همچنین از روش تحلیل واریانس دوطرفه و تست تعقیبی توکی به‌منظور ارزیابی اختلاف معنادار بین گروه‌های آزمایشی استفاده‌شد. نمودارهای مطالعه حاضر نیز با استفاده از نرم‌افزار سیگما پلات ترسیم‌شدند. لازم به ذکر است، سطح معنی‌داری اختلافات میان گروه‌ها $P<0.05$ در نظر گرفته‌شد.

نتایج

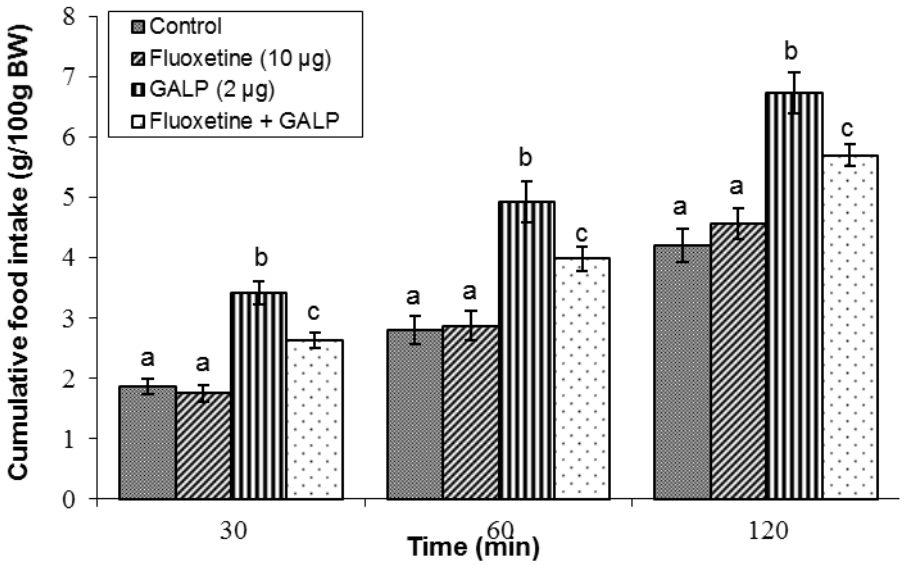
اخذ غذا

مطابق با نتایج قابل مشاهده در نمودار 1، تزریق GALP با دوز 0.5 میکروگرم سبب ایجاد تغییر محسوسی در اخذ غذای جوجه‌های گوشتی نشد ($P\geq0.05$)، با این حال تجویز دوزهای بالاتر آن (1 و 2 میکروگرم) افزایش معناداری در مصرف خوراک جوجه‌ها در مقایسه با گروه کنترل ایجادنمود ($P<0.05$).



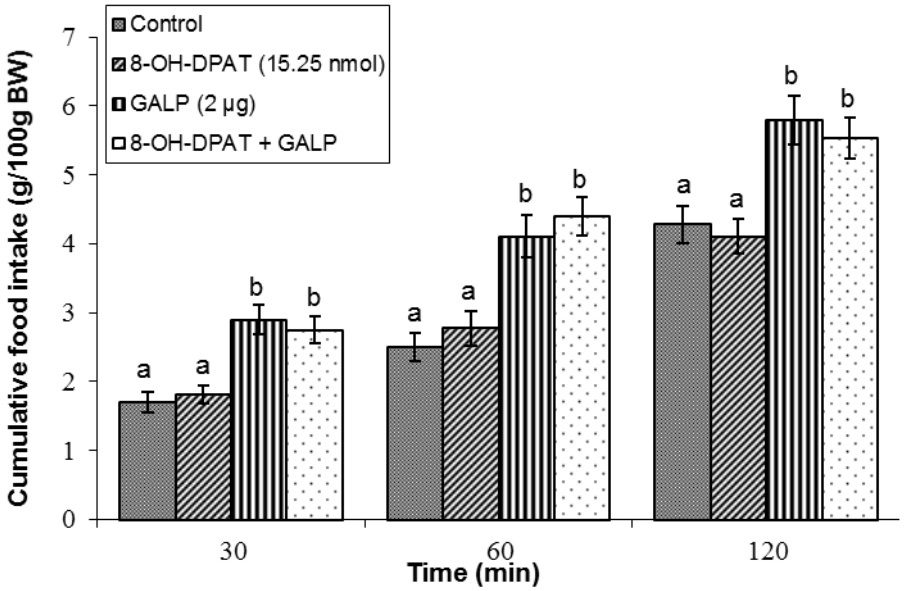
نمودار1- اثر تزریق داخل بطنی مغزی دوزهای مختلف GALP (0.5، 1 و 2 میکروگرم) بر اخذ غذای جوجه‌های گوشتی. مقادیر بصورت میانگین ± انحراف معیار ارائه‌شده‌است. حروف مختلف (a، b و c) بیانگر اختلاف معنی‌دار از گروه کنترل هستند ($P<0.05$).

در آزمایش دوم، اگرچه تزریق دوز تحت اثر فلوکستین (10 میکروگرم) تغییر معناداری را در اخذ غذای جوجه‌ها به همراه نداشت ($P\geq0.05$)، اما تجویز همزمان آن با GALP سبب سرکوب معنادار هایپرفاژی ناشی از GALP شد (نمودار 2) ($P<0.05$).



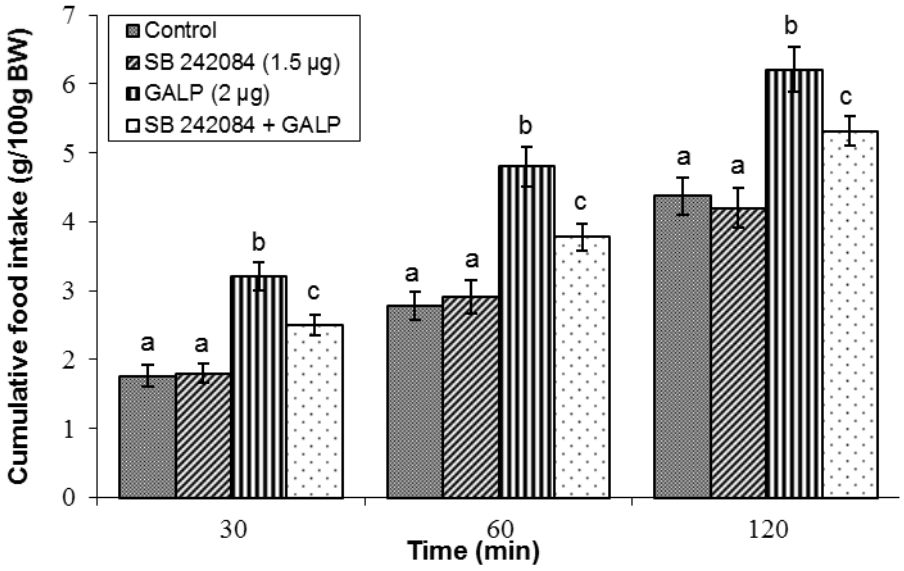
نمودار2- اثر تزریق داخل بطنی مغزی فلوکستین (10 میکروگرم)، GALP (2 میکروگرم) و فلوکستین+ GALP بر اخذ غذای جوجه‌های گوشتی. مقادیر به‌صورت میانگین ± انحراف معیار ارائه‌شده‌است. حروف مختلف (a، b و c) بیانگر اختلاف معنی‌دار از گروه کنترل هستند ($P<0.05$).

در آزمایش سوم، نه‌تنها تزریق جداگانه دوز تحت اثر 8-OH-DPAT (15.25 نانومول) تغییر معنی‌داری در اخذ غذای جوجه‌ها ایجاد ننمود ($P\geq0.05$)، بلکه تزریق آن به همراه GALP نیز، نتوانست سبب بروز تغییر محسوسی در هایپرفاژی ناشی از GALP شود (نمودار 3) ($P\geq0.05$).



نمودار3- اثر تزریق داخل بطنی مغزی 8-OH-DPAT (15.25 نانومول)، GALP (2 میکروگرم) و GALP + 8-OH-DPAT بر اخذ غذای جوجه‌های گوشتی. مقادیر به‌صورت میانگین ± انحراف معیار ارائه‌شده‌است. حروف مختلف (a و b) بیانگر اختلاف معنی‌دار از گروه کنترل هستند ($P<0.05$).

بر اساس نتایج آزمایش چهارم نیز، تفاوت معناداری در مصرف خوراک جوجه‌ها متعاقب تجویز دوز تحت اثر SB242084 (1.5 میکروگرم) مشاهده‌نشد ($P\geq0.05$)، با این وجود تزریق توامان SB242084 و GALP هایپرفاژی ناشی از GALP را تضعیف‌نمود (نمودار 4) ($P<0.05$)..



نمودار4- اثر تزریق داخل بطنی مغزی SB242084 (1.5 میکروگرم)، GALP (2 میکروگرم) و GALP + SB242084 بر اخذ غذای جوجه‌های گوشتی. مقادیر به‌صورت میانگین ± انحراف معیار ارائه‌شده‌است. حروف مختلف (a، b و c) بیانگر اختلاف معنی‌دار از گروه کنترل هستنند ($P<0.05$).

سطح کورتیزول پلاسما

با توجه به یافته‌های ارائه‌شده در جدول 2، تزریق ICV دوزهای مختلف GALP (0.5، 1 و 2 میکروگرم) نتوانست تغییر معنی‌داری در سطح کورتیزول پلاسما در مقایسه با گروه کنترل ایجادنماید ($P\geq0.05$).

جدول 2- سطح کورتیزول پلاسما (نانوگرم/ میلی‌لیتر) در گروه‌های آزمایشی دریافت‌کننده GALP

گروه‌های آزمایشی	سطح کورتیزول پلاسما (نانوگرم/ میلی‌لیتر)
کنترل	0.74 ± 0.27
GALP (0.5 میکروگرم)	0.67 ± 0.28
GALP (1 میکروگرم)	0.72 ± 0.25
GALP (2 میکروگرم)	0.69 ± 0.21

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 فراهم‌می‌کند. در مسیر شناسایی عوامل دخیل در تنظیم اخذ غذا، در مطالعه حاضر به بررسی تداخل اثر میان GALP و سیستم سروتونرژیک در جوجه‌های گوشتی پرداختیم. بر اساس یافته‌های به‌دست‌آمده، تزریق GALP در دوزهای 1 و 2 میکروگرم سبب افزایش محسوس اخذ غذا در جوجه‌های گوشتی می‌شود. محققان پیش‌تر نشان‌دادند که GALP در فرآیندهای فیزیولوژیکی مختلف، به‌ویژه در تنظیم اشتها، مصرف انرژی و عملکردهای عصبی غدد درون‌ریز نقش دارد (29). GALP اثرات خود را از طریق تعامل با گیرنده‌های متصل به پروتئین G (GPCRs)، به ویژه خانواده GalR اعمال‌می‌کند. این گیرنده‌ها واسطه اعمال فیزیولوژیکی متنوع GALP هستند و آن را به مسیرهای سیگنالی تنظیم‌کننده عملکردهای بدن، مرتبط می‌سازند (30). هم تجویز GALP و هم گالانین در هسته مجاوربطنی (PVN) سطوح در گردش هورمون محرک تیروئید (TSH) را سرکوب‌می‌کند (30, 31). اثرات GALP بر مصرف وعده غذایی در رت‌ها و موش‌های سوری به‌طور گسترده‌ای مورد مطالعه قرارگرفته‌است. بر اساس تحقیقات پیشین، هنگامی‌که GALP در PVN رت‌های سیر تجویزمی‌شود، مصرف غذا را به‌طور قابل‌توجهی تا یک ساعت پس از تجویز افزایش می‌دهد (31). در آزمایش‌های مقایسه‌ای، اثرات افزایش اشتها قوی‌تر GALP نسبت به گالانین ثابت‌شده‌است که نقش ویژه آن را در خانواده پپتیدهای گالانینی برجسته‌می‌کند (14). درحالی‌که گالانین 2-29، یک آگونیست انتخابی GalR2، تأثیری بر تغذیه ندارد، اثرگذاری GALP در شرایط مختلف آزمایشی قوی گزارش‌شده‌است (31). اثرات GALP بر مصرف خوراک در موش‌های سوری به‌طور قابل‌توجهی با رت‌ها متفاوت است. و در آن‌ها، تزریق GALP همان اثرات هایپرفاژیک حاد مشاهده شده در رت‌ها را ایجاد نمی‌کند. در عوض، GALP پس از تجویز مزمن در موش‌های سوری سبب کاهشی گذرا در وزن بدن و مصرف وعده غذایی می‌شود (15). یافته‌های مطالعه حاضر، مطابق با آزمایش‌های گذشته روی رت‌ها، اثرات هایپرفاژیک متعاقب تجویز مرکزی GALP را در جوجه‌های گوشتی پنج روزه نشان‌داد. 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 نشان‌می‌دهد 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_{1A}) و SB242084 (آنتاگونیست گیرنده 5-HT_{2C}) در دوزهای تحت اثر تزریق شدند، تجویز مستقل آن‌ها اثری به همراه نداشته‌است. با این‌حال در آزمایش‌ها پیشین بارها نقش سروتونین و گیرنده‌های آن در تنظیم اخذ غذا گزارش‌شده‌است. هنگامی که سروتونین به صورت ICV تجویز می‌شود، می‌تواند با تعدیل فعالیت گیرنده‌های سروتونینی خاص در مغز، به‌طور قابل‌توجهی بر مصرف غذا تأثیر بگذارد (25, 32). مشخص‌شده‌است که فعال‌شدن گیرنده‌های 5-HT_{2C} در هیپوتالاموس باعث کاهش اشتهامی‌گردد (33). تحریک این گیرنده باعث مهار آزادسازی دوپامین از نورون‌هایی تقویت‌کننده تغذیه می‌شود و به طور مؤثر سیگنال‌های گرسنگی را کاهش‌می‌دهند. برعکس، مسدودشدن این گیرنده‌ها می‌تواند منجر به افزایش مصرف غذا شود، زیرا در این شرایط بدن توانایی کمتری در تشخیص علائم سیری دارد (20, 34).

در خصوص تداخل اثر میان GALP و سیستم سروتونرژیک، مشخص‌شده‌است که نورون‌هایGALP هم گیرنده‌های Y1 و هم گیرنده‌های 5-HT_{2C} را در هیپوتالاموس بیان‌می‌کنند (35). این امر نشان‌می‌دهد که نورون‌های GALP تحت تأثیر سیگنال‌های متابولیکی قرارمی‌گیرند که از طریق این گیرنده‌ها منتقل‌می‌شوند و پیام‌های دریافتی را برای تعدیل مصرف انرژی و عملکردهای تولیدمثلی ادغام‌می‌کنند. مطالعات پیشین نشان‌دادند که بیان mRNA ژن GALP نسبت به حالات متابولیکی

حساس است. به عنوان مثال، روزه‌داری و به‌طور کلی محرومیت غذایی بیان GALP را کاهش‌می‌دهد، که به نظر می‌رسد این رخداد با تغییرات در سیگنال‌دهی سروتونین مرتبط باشد (36). به‌طور خاص، اثر سروتونین بر گیرنده‌های $5\text{-}HT_{2C}$ 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 (23). مطالعات ایمونوهیستولوژیک و بیوشیمیایی متعاقب نشان‌داده‌است که اثرات GalR1 بر تشنج با کاهش سروتونین در هیپوکامپ مرتبط است، درحالی‌که مهار تشنج توسط GalR2 با افزایش غلظت سروتونین همراه می‌باشد (37). جالب توجه است که تجویز مزمن فلوکستین، سبب تنظیم GalR2 می‌گردد، اما اثری بر GalR1 ندارد (22). با توجه به پراکنش گیرنده‌های سروتونرژیک و GALP در نواحی هیپوتالاموسی همچون هسته کمانی احتمال تداخل اثر آن‌ها در سایر عملکردهای فیزیولوژیک همچون تنظیم اشتها قوت می‌گیرد (25, 38). در این مطالعه نیز هم‌راستا با آزمایش‌ها قبلی، نقش میانجیگری گیرنده‌های $5\text{-}HT_{2C}$ در بروز اثرات هایپرفاژیک GALP مشاهده‌شد. به این صورت که اگرچه تزریق همزمان آگونیست گیرنده $GALP + 5\text{-}HT_{1A}$ تغییر معنی‌داری در هایپرفاژی ناشی از GALP ایجادننمود، بااین‌حال تزریق فلوکستین و آنتاگونیست گیرنده $5\text{-}HT_{2C}$ به همراه GALP سبب تضعیف اثرات افزاینده اخذ غذای GALP شد.

از سوی دیگر در مطالعه حاضر، تزریق دوزهای مختلف GALP (0.5، 1 و 2 میکروگرم) تغییر معنی‌داری در سطح کورتیزول پلاسما ایجاد ننمود. تحقیقات پیشین نشان‌داده‌اند که mRNA این پپتید و گیرنده‌های آن (GalR1، GalR2 و GalR3) در هیپوتالاموس، هیپوفیز و غدد فوق کلیوی رت‌ها بیان‌می‌شوند که نقش بالقوه GALP را در تنظیم محور HPA نشان‌می‌دهد (39). در یک آزمایش، تجویز داخل صفاقی (IP) حاد GALP در رت‌ها منجر به تغییراتی در بیان ژن‌های محور HPA و آنزیم‌های استروئیدوژنز در هیپوتالاموس، هیپوفیز و غدد فوق کلیوی شد (40). مشخص‌شده‌است که گالانین، که شباهت فراوانی با GALP دارد، ترشح کورتیزول را از سلول‌های قشر آدرنال انسان و آزادسازی کورتیکوسترون را از سلول‌های قشر آدرنال رت‌ها تحریک‌می‌کند (41, 42). البته به نظر می‌رسد بیان mRNA ژن GALP در هسته کمانی هیپوتالاموس تحت تأثیر عوامل منعکس کننده وضعیت متابولیک، مانند ناشتایی و سطح لپتین، به جای گلوکوکورتیکوئیدها یا استروئیدهای جنسی در گردش باشد (43). تفاوت‌های مشاهده‌شده در تحقیقات، می‌تواند ریشه در اختلافات ژنتیکی میان پرندگان و پستانداران و مسیرهای تنظیمی متنوع عصبی و هورمونی آن‌ها داشته‌باشد، 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 پلاسما نداشته اما سبب افزایش اخذ غذا در جوجه‌های گوشتی می‌گردد. همچنین به نظر می‌رسد این اثر هایپرفاژیک از طریق گیرنده‌های $5\text{-}HT_{2C}$ 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 کمک‌کند.

تشکر و قدردانی

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

تعارض منافع

نویسندگان این مقاله تعارضی در منافع ندارند.

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 ce: 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. Zendehdel 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. Zendehdel M, Sardari F, Hassanpour S, Rahnema M, Adeli A, Ghashghayi E. Serotonin-induced hypophagia is mediated via α2 and β2 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-HT1A 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, Zendehdel M, Khodadadi M. Central serotoninergic 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, Dhillo 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-HT2C 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[1], Morteza Zendehdel[2]*, Bita Vazir[3] , Ali Rassouli[4] , Hadi Haghbin nazarpak[5]

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

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

*Corresponding Author: Morteza Zendehdel

Tel: 0098-21-61117186

E-mail: zendedel@ut.ac.ir

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 and 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-HT1A receptor agonist) and SB242084 (5-HT2C 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 ($P\geq0.05$).

Conclusion: The results of this study showed that the hyperphagic effect of GALP is probably mediated through 5-HT2c receptors in broilers.

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