فصلنامه علمی فیزیولوژی و تکوین جانوری
شماره پیاپی ۶۰، دوره ۱۵، شماره ۴، پاییز۱۴۰۱، صفحه ۱ تا ۱۲
Qjaphd.sinaweb.net ISSN: ۱۷۳۵-۹۸۸۰

بررسی اثرات سینرژیستی گیرنده های کورتیکوتروپینی و ملانوکورتینی با دوز تحت اثر فوئنکسین- ۱۴ بر اخذ غذا در جوجه های نوزاد

سحر رجائی[۱]، **مرتضی زنده دل**[۲]، مهدی رهنما[۳]، شاهین حسن پور[۴]، معصومه اصل روستا[۵]

۱- دانشجوی دکتری گروه فیزیولوژی، واحد زنجان، دانشگاه آزاد اسلامی، زنجان، ایران.
۲- استاد بخش فیزیولوژی، گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران، ایران. نویسنده مسئول: zendedel@ut.ac.ir
۳- دانشیار گروه فیزیولوژی، واحد زنجان، دانشگاه آزاد اسلامی، زنجان، ایران.
۴- استادیار بخش فیزیولوژی، گروه علوم پایه،دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران، تهران، ایران
۵- استادیار گروه فیزیولوژی، واحد زنجان، دانشگاه آزاد اسلامی، زنجان، ایران.

تاریخ دریافت:۱۴۰۱/۰۲/۱۸ **تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۶/۰۲**

چکیده

زمینه و هدف: در مغز پرندگان و پستانداران پپتیدهای متنوعی در تنظیم اخذ غذا نقش دارند. ملانوکورتین و کورتیکوتروپین نقش مهمی در کنترل اخذ غذا دارند. از طرفی فوئنکسین- ۱۴ اخذ غذا را افزایش می‌دهد. مطالعه حاضر به منظور بررسی گیرنده های سینرژیستی کورتیکوتروپین و ملانوکورتین با دوز تحت اثر فوئنکسین- ۱۴ بر اخذ غذا در جوجه های نوزاد صورت گرفته است.

مواد و روش ها: تعداد ۱۹۲ جوجه بطور تصادفی در چهار گروه آزمایشی تقسیم شدند. شامل یک گروه کنترل و ۳ گروه تیمار بود. در تمام آزمایشات، پرندگان پس از ۳ ساعت محرومیت از غذا با تزریق داخل مغزی بطنی دسترسی بدون محدودیت به غذا و آب داشتند. مصرف غذا بر اساس درصد وزن بدن اندازه گیری شد. تیماراول: محلول کنترل، فوئنکسین- ۱۴ ، Astressin-B و فوئنکسین- ۱۴ + Astressin-B ، تیمار دوم: محلول کنترل، فوئنکسین- ۱۴ ، Astressin-2B و فوئنکسین- ۱۴ + Astressin-2B و تیمار سوم: محلول کنترل، فوئنکسین- ۱۴ ، SHU9119 و فوئنکسین- ۱۴ + SHU9119 و در تیمار چهارم: محلول کنترل، فوئنکسین- ۱۴ ، MCL0020 و فوئنکسین- ۱۴ + MCL0020 تزریق شد.

نتایج: تزریق هم‌زمان فوئنکسین- ۱۴ + Astressin-B و فوئنکسین- ۱۴ + Astressin-2B بطور معنی داری موجب افزایش اخذ غذا شد(p< ۰/۰۵)، درحالیکه تزریق هم‌زمان فوئنکسین- ۱۴ با SHU9119 و فوئنکسین- ۱۴ با MCL0020 نتوانست اخذ غذا را تغییر دهد(p>۰/۰۵).

نتیجه گیری: با توجه به نتایج تزریق هم‌زمان فوئنکسین- ۱۴ و Astressin-2B بطور معنی داری موجب افزایش اخذ غذا شد. احتمالا یک اثر سینرژیستی بین فوئنکسین- ۱۴ و سیستم کورتیکوتروپینی در کنترل اخذ غذا در جوجه ها وجود دارد.

واژگان کلیدی: کورتیکوتروپین ، ملانوکورتین، فوئنکسین- ۱۴ ، اخذ غذا، جوجه

مقدمه

کنترل اشتها در سیستم اعصاب مرکزی توسط میانجی ها و مدارهای عصبی انجام می گیرد. در مغز پرندگان و پستانداران نوروپپتیدهای متنوعی در تنظیم اخذ غذا و کنترل وزن بدن موثر هستند که این نوروپپتیدها در نواحی مختلفی از مغز حضور داشته و با اتصال به گیرنده های اختصاصی خود و یا با اثر بر آزاد سازی سایر میانجی های عصبی در کنترل اشتها نقش دارند (۱,۲). بنابراین تعامل بین میانجی های عصبی برای درک مکانیسم های اساسی تنظیم مصرف خوراک در پرندگان، به عنوان یک فرآیند مهم باید در نظر گرفته شود (۳). در این مورد بیشتر تحقیقات روی موش صحرایی انجام شده است و در پرندگان مطالعات کمی انجام شده است. از طرفی علیرغم شباهتهای موجود در مکانیسم های کنترل کننده اخذ غذا بین پستانداران و پرندگان تفاوتهای زیادی نیز وجود دارد. حتی در بین جوجه ها بین نژاد گوشتی و تخمگذار تفاوت هایی وجود دارد. بنابراین شناخت مکانیسم های کنترل کننده اخذ غذا در پرندگان نه تنها از نقطه نظر فیزیولوژی مقایسه ای بین پستانداران و پرندگان حائز اهمیت است بلکه شناخت این مکانیسم ها حتی بین سویه های مختلف از یک گونه نیز دارای اهمیت است. در سال ۲۰۱۳ محققین پپتیدی ۲۰ اسید آمینه ای تحت عنوان فوئنکسین از مغز موش (بخصوص هیپوتالاموس و هیپوفیز) شناسایی کردند که نقش مهمی در فعال کردن سیستم تولید مثلی دارد (۴). همچنین گزارش شده مهار فوئنکسین موجب تاخیر در چرخه فحلی موش می شود. فوئنکسین-۱۴ و فوئنکسین-۲۰ رایجترین ایزوفرم های نوروپپتید فوئنکسین هستند که عملکردهای مشابهی دارند. فوئنکسین-۲۰ درد احشایی را سرکوب می کند و تزریق داخل مغزی بطنی فوئنکسین-۱۴ اثرات ضد اضطرابی را در جوندگان ایجاد می کند(۵). همچنین فوئنکسین نقش تنظیمی بر ترشح انسولین تحریک شده با گلوکز، مصرف انرژی و تنظیم توده بدن دارد (۶). مشخص شده است فوئنکسین در هسته های هیپوتالاموسی از جمله هسته کمانی و مجاور بطنی بیان می شود (۷) ، این هسته ها در تنظیم اشتها نقش دارند. تحقیقات نشان داده است mRNA مربوط به فوئنکسین در قلب، لوله گوارش، تخمدان، هیپوفیز و دیانسفال جوجه وجود دارد (۸). با این حال، هیچ گزارشی از گیرنده های احتمالی آن در پرندگان وجود ندارد . متأسفانه، نقش آن در تنظیم اشتها به خوبی مشخص نشده است.

سایر تحقیقات نشان می دهد تزریق داخل مغزی بطنی فوئنکسین-۱۴ در رت ها در فاز روشنایی باعث تحریک مصرف غذا می‌شود در حالی که موجب کاهش فواصل بین وعده‌های غذایی می شود (۹). از طرفی، تزریق داخل وریدی فوئنکسین-۱۴ در فازهای روشن و تاریک، تأثیری بر مصرف غذا ندارد (۱۰). همچنین گزارش شده است که فوئنکسین اثرات افزایش دهنده اشتها در رت و جوجه های نوزاد دارد (۹,۱۱). اگرچه فوئنکسین و نسفاتین-۱ هر دو در هیپوتالاموس بصورت مشترک بیان می شوند، اما نسفاتین-۱ به عنوان یک سرکوب کننده مصرف غذا عمل می کند در حالیکه فوئنکسین بعنوان یک نوروپپتید محرک اشتها عمل می کند (۱۲). همچنین فوئنکسین-۲۰ توانسته

مصرف غذا را از طریق افزایش پپتید تنظیم کننده نسخه برداری کوکائین و آمفتامین هیپوتالاموسی کاهش دهد (۶). اثرات فوئنکسین تحت تأثیر تعاملات آن با سایر نوروپپتیدها قرار می گیرد. سیستم کورتیکوتروپین یک سیستم تنظیم کننده در سیستم عصبی مرکزی است. فاکتور آزاد کننده کورتیکوتروپین یک انتقال دهنده عصبی ۴۱ اسید آمینه ای با دو گیرنده CRF1 و CRF2 میباشد که در تنظیم مصرف غذا نقش دارند (۱۴، ۱۳).

مطالعه قبلی نشان داد که تزریق Astressin-B (آنتاگونیست گیرنده های CRF1/ CRF2) یا Astressin-2B(آنتاگونیست گیرنده CRF2) مصرف غذا را در پستانداران(۱۵) و جوجه های گوشتی نوزاد تنظیم می کند(۱۶). سیستم ملانوکورتین یکی دیگر از سیستم های انتقال دهنده عصبی مرکزی است که در هسته های هیپوتالاموسی از جمله هسته کمانی، شکمی و مجاور بطنی هیپوتالاموس یافت می شود و مصرف غذا را کنترل می کند.

ملانوکورتین‌ها هورمون‌های آدرنوکورتیکوتروپ و هورمون‌های محرک ملانوسیت را شامل می‌شوند که از شکسته شدن مولکول بزرگ پرواپیوملانوکورتین به دست آمده و اثرات خود را از طریق اتصال به خانواده گیرنده‌های ملانوکورتین (MC1R-MC5R) اعمال می‌کنند اما تنها دو گیرنده MC3 و MC4 دارای نقش تنظیمی در کنترل اشتها در پرندگان می باشند (۱۷). مطالعات گذشته حاکی از آن است که تزریق درون مغزی بطنی آنتاگونیست گیرنده‌های (SHU9119) MC3/MC4 و آنتاگونیست گیرنده MC4 (MCL0020) مصرف غذا را در جوجه های گوشتی افزایش می‌دهد (۱۶). همچنین تزریق درون مغزی بطنی آگونیست گیرنده‌های MC3/MC4 مصرف غذا را در پستانداران کاهش می‌دهد. تمام مطالب فوق نشان دهنده تأثیر فوئنکسین-۱۴، ملانوکورتین و کورتیکوتروپین بر اخذ غذا می‌باشد اما در خصوص ارتباط بین ملانوکورتین و کورتیکوتروپین با دوز تحت اثر فوئنکسین-۱۴ بر کنترل اخذ غذا در جوجه‌ها و اثرات سینرژیستی احتمالی آنها تا به حال مطالعه‌ای انجام نشده است.

داشتن اطلاعات کافی درباره کنترل اخذ غذا و تنظیم اشتها به نوع خاصی از غذا در پرندگان با توجه به پیشرفت روز افزون صنعت پرورش طیور از دو جهت حایز اهمیت است: الف) با اطلاع از مکانیسم‌های مغزی در تنظیم اخذ غذا و اصلاح ژنتیک بتوان سرعت رشد را در طیور گوشتی افزایش و سن عرضه به بازار را کاهش داد. با کنترل میزان غذای مصرفی در نژاد تخمگذار بتوان از چاقی بیش از حد آنها جلوگیری کرد. لذا مطالعه حاضر به منظور ارزیابی و آشکار سازی اثرات سینرژیستی ملانوکورتین و کورتیکوتروپین با دوز تحت اثر فوئنکسین-۱۴ در تنظیم اخذ غذا در جوجه‌های نوزاد انجام گرفته است

مواد و روش ها

نگهداری جوجه ها

این مطالعه در ۴ مرحله آزمایش بر روی ۱۹۲ قطعه جوجه خریداری شده از شرکت ماهان (ایران) انجام شد (هر مرحله آزمایش شامل یک گروه کنترل و ۳ گروه تیمار با ۱۲ قطعه جوجه در هر گروه بود). جوجه‌ها در

دمای ۱±۳۰ (گرمای الکتریکی) و رطوبت ۵±۵۰٪ درصد و نور ۲۳ ساعت روشنایی و ۱ ساعت تاریکی با دسترسی آزاد به آب و غذا (جیره‌ی استارتر استاندارد ۲۱٪ پروتئین خام و ۲۸۵۰ کیلوکالری به ازای هر کیلوگرم انرژی قابل متابولیزه، شرکت چینه تهران، ایران) نگهداری شدند. کلیه‌ی مراحل نگهداری، جابه-جایی، تزریق، انجام آزمایش روی جوجه‌ها و جنبه‌های اخلاقی کار با حیوانات با رعایت اصول راهنمای مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی (موسسه ملی سلامت ایالات متحده‌ی آمریکا) و همچنین مطابق با قوانین مصوب توسط کمیته اخلاق حیوانات آزمایشگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران انجام گرفته است(IR.UT.VET.REC.1400.374).

در هر مرحله از آزمایش ابتدا جوجه‌های یکروزه به مدت ۳ روز به صورت گروهی و سپس به مدت ۲ روز در قفس‌های انفرادی که دارای دانخوری و آبخوری مجزا بودند، نگهداری شدند. برای انجام آزمایشات جوجه‌ها همواره تا ۳ ساعت قبل از انجام تزریقات دسترسی آزاد به آب و غذا داشتند و اما ۳ ساعت قبل از انجام اولین تزریق از اخذ غذا محروم شدند و در تمام طول آزمایش به آب تازه دسترسی داشتند.

داروهای مصرفی

داروهای مصرفی شامل فوئنکسین- ۱۴ ، Astressin-B (آنتاگونیست گیرنده های CRF1/CRF2)، Astressin-2B (آنتاگونیست گیرنده CRF2)، SHU9119 (آنتاگونیست گیرنده های MC3/MC4) وMCL0020 (آنتاگونیست گیرنده MC4.) بود. این داروها در بافر فسفات(PBS) که حاوی اوانس بلو ۰/۱ درصد بود حل شدند. در تمامی گروه‌های آزمایشی از بافر فسفات در تزریق داخل مغزی بطنی به عنوان گروه کنترل استفاده شد. تمام داروهای مصرفی از شرکت سیگما آمریکا تهیه شده است. همچنین، تمام دوزهای داروها بر اساس مطالعات قبلی تعیین شده است (۱۱,۱۸,۱۹).

روش تزریق داخل مغزی بطنی

جهت تزریق داخل مغزی بطنی در جوجه‌ها، سر جوجه هوشیار توسط یک وسیله آکریلیک که زاویه نوک آن ۴۵ درجه می‌باشد نگه داشته می‌شود و سطح جمجمه موازی با سطح میز کار است (۲۰). یک سوراخ در کلیشه تعبیه شده و کلیشه بلافاصله بر روی جمجمه در ناحیه بطن راست قرار می‌گیرد. بعداً با استفاده از سرنگ هامیلتون از طریق سوراخ ایجاد شده در بطن مواد مورد نظر تزریق می‌گردد (۲۱). سر سوزن تنها به اندازه ۴ میلی‌متر در پوست و جمجمه فرو می‌رود. این پروسه در جوجه‌ها استرس‌زا نمی‌باشد (۲۲). حجم تزریقات در هر گروه ۱۰ میکرولیتر می‌باشد. بلافاصله بعد از تزریق جوجه‌ها به قفس برگردانده شده و به صورت آزاد به آب و غذا دسترسی داشتند. سپس میزان اخذ غذای تجمعی در زمان‌های ۳۰، ۶۰ و ۱۲۰ دقیقه بعد از تزریق اندازه‌گیری شد. همچنین اخذ غذا به عنوان درصدی از وزن بدن بیان گردید تا تأثیر تفاوت وزن بین جوجه‌ها بر میزان اخذ غذا به حداقل برسد. در پایان هر مرحله از آزمایش، جوجه‌ها با روش پیچاندن سریع گردن آسان کشی شده و محل تزریق مورد بررسی قرار گرفت. تنها داده‌های جوجه‌هایی که رنگ در بطن جانبی دیده شد مورد آنالیز قرار گرفت. زیرا رنگ اوانس بلو ۰/۱ درصد

در بافر فسفات، به عنوان شاهد در گروه کنترل استفاده شد و دیگر داروهای مد نظر یا در آن حل شده و یا در آن رقیق شدند.

طراحی آزمون و اندازه گیری اخذ غذای تجمعی

آزمایش اول شامل گروه (الف، کنترل) تزریق داخل مغزی بطنی PBS ، گروه (ب) تزریق داخل مغزی بطنی فوئنکسین- ۱۴ با دوز تحت اثر ۰/۸ نانومول، گروه (ج) تزریق داخل مغزی بطنی Astressin-B با دوز تحت اثر ۳۰ میکروگرم و گروه (د) تزریق داخل مغزی بطنی فوئنکسین- ۱۴ به همراه Astressin-B بود. آزمایش دوم شامل گروه (الف، کنترل) تزریق داخل مغزی بطنی PBS، گروه (ب) تزریق داخل مغزی بطنی فوئنکسین- ۱۴ با دوز تحت اثر ۰/۸ نانومول، گروه (ج) تزریق داخل مغزی بطنی Astressin-2B با دوز تحت اثر ۳۰ میکروگرم و گروه (د) تزریق داخل مغزی بطنی فوئنکسین- ۱۴ به همراه Astressin-2B بود. آزمایش سوم شامل گروه (الف، کنترل) تزریق داخل مغزی بطنی PBS، گروه (ب) تزریق داخل مغزی بطنی فوئنکسین- ۱۴ با دوز تحت اثر ۰/۸ نانومول، گروه (ج) تزریق داخل مغزی بطنیSHU9119 با دوز تحت اثر ۰/۵ نانومول و گروه (د) تزریق داخل مغزی بطنی فوئنکسین- ۱۴ به همراه SHU9119 بود. آزمایش چهارم شامل گروه (الف، کنترل) تزریق داخل مغزی بطنی PBS ، گروه (ب) تزریق داخل مغزی بطنی فوئنکسین- ۱۴ با دوز تحت اثر ۰/۸ نانومول ، گروه (ج) تزریق داخل مغزی بطنی MCL0020 با دوز تحت اثر ۰/۵ نانومول و گروه (د) تزریق داخل مغزی بطنی فوئنکسین- ۱۴ به همراه MCL0020 بود.

روش ارزیابی آماری

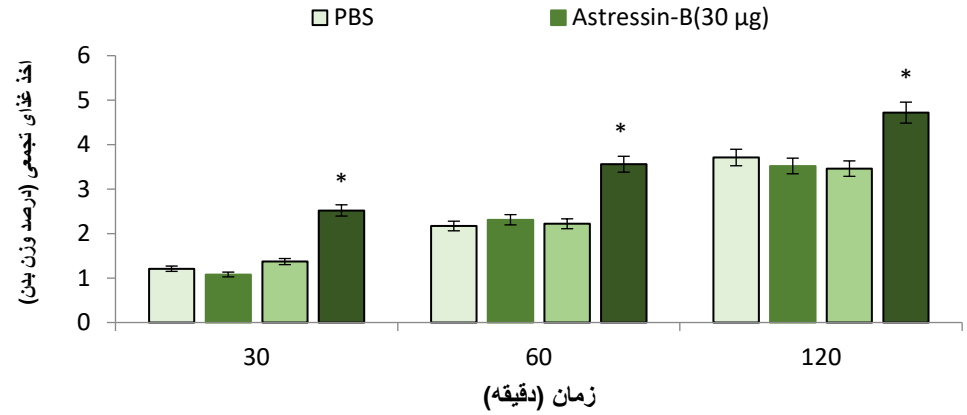
تجزیه و تحلیل نتایج به دست آمده از آزمایشات، در تمامی گروه‌ها و در هر مرحله زمانی با استفاده از نرم افزار آماری SPSS16 انجام شد. به منظور تعیین وجود اختلاف میان گروه‌های آزمایشی از روش تحلیل واریانس دوطرفه و تست تعقیبی توکی استفاده شد. در تمام مقایسه‌ها $p<۰/۰۵$ به عنوان معیار اختلاف معنی‌دار مدنظر بود. نمودارها در نرم افزار سیگما پلات (نسخه ۱۴/۰۰) رسم شد.

نتایج

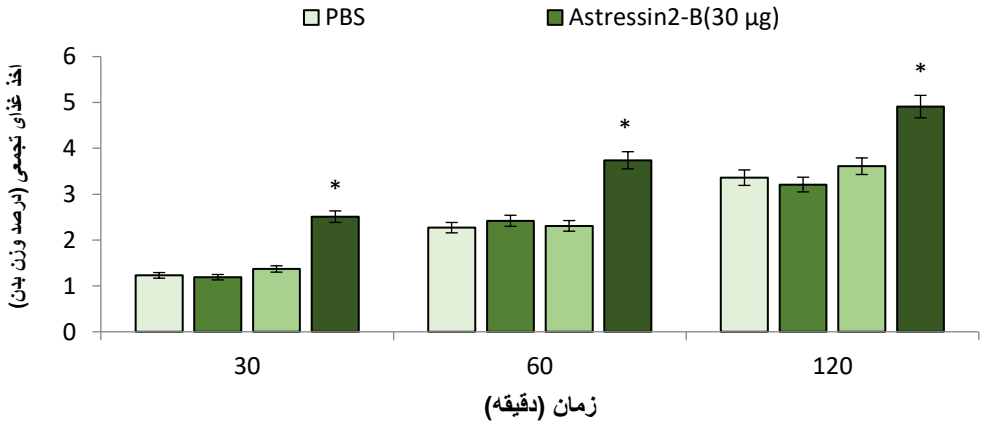
در آزمایش اول تزریق داخل مغزی بطنی فوئنکسین- ۱۴ با دوز تحت اثر ۰/۸ نانومول و Astressin-B با دوز تحت اثر ۳۰ میکروگرم به تنهایی نتوانست اخذ غذا را نسبت به گروه کنترل تغییر دهد ($p>۰/۰۵$) اما تزریق همزمان فوئنکسین- ۱۴ و Astressin-B بطور معنی داری در زمان‌های ۳۰، ۶۰ و ۱۲۰ دقیقه پس از تزریق موجب افزایش اخذ غذا در مقایسه با گروه کنترل در جوجه های نوزاد شد ($p<۰/۰۵$، نمودار۱).

در آزمایش دوم نتایج حاصل نشان داد که تزریق فوئنکسین- ۱۴ با دوز تحت اثر ۰/۸ نانومول و Astressin-2B با دوز تحت اثر ۳۰ میکروگرم به تنهایی تاثیری در اخذ غذا نسبت به گروه کنترل نداشت ($p>۰/۰۵$) در حالیکه تزریق همزمان فوئنکسین- ۱۴ و Astressin-2B بطور معنی داری در زمان‌های ۳۰، ۶۰

و ۱۲۰ دقیقه پس از تزریق موجب افزایش اخذ غذا نسبت به گروه کنترل در جوجه های نوزاد شد (۰/۰۵ >p، نمودار۲).

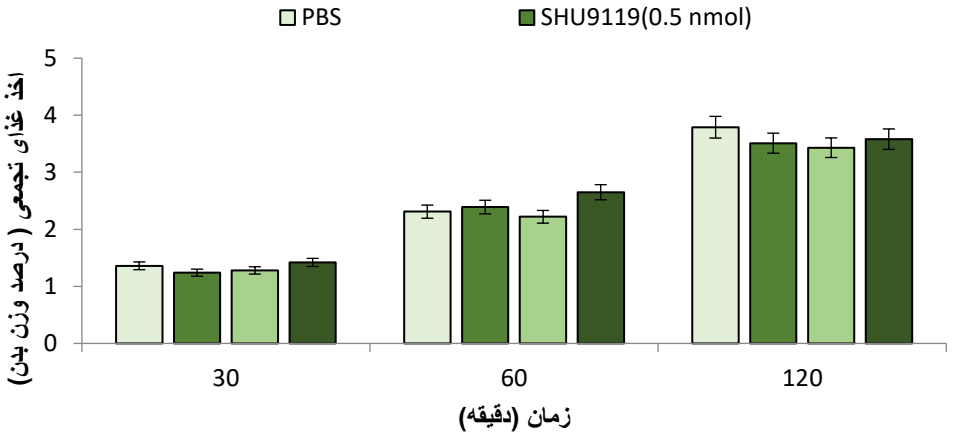


نمودار ۱- اثر تزریق درون بطن مغزی Phoenixin-14 (۰/۸ نانومول) و Astressin-B (۳۰ میکروگرم) بر اخذ غذای تجمعی در جوجه های نوزاد گوشتی. داده ها بصورت میانگین ± انحراف معیار میانگین ارائه شده است (تعداد جوجه ها ۱۲ قطعه در هر گروه). Astressin-B : آنتاگونیست گیرنده های CRF1/CRF2. * نشان دهنده تفاوت معنی دار با گروه کنترل است (p<۰/۰۵).



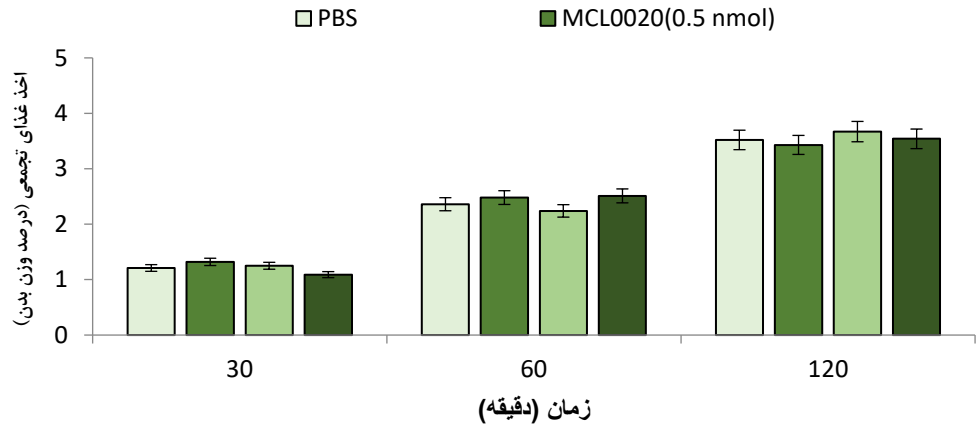
نمودار ۲- اثر تزریق درون بطن مغزی Phoenixin-14 (۰/۸ نانومول) و Astressin-2B (۳۰ میکروگرم) بر اخذ غذای تجمعی در جوجه های نوزاد گوشتی. داده ها بصورت میانگین ± انحراف معیار میانگین ارائه شده است (تعداد جوجه ها ۱۲ قطعه در هر گروه). Astressin-2B : آنتاگونیست گیرنده CRF2. * نشان دهنده تفاوت معنی دار با گروه کنترل است(p<۰/۰۵).

در آزمایش سوم تزریق فوئنکسین- ۱۴ با دوز تحت اثر ۰/۸ نانومول و SHU9119 با دوز تحت اثر ۰/۵ نانومول به تنهایی نتوانست اخذ غذا را نسبت به گروه کنترل تغییر دهد (p>۰/۰۵). همچنین تزریق هم‌زمان فوئنکسین- ۱۴ و SHU9119 نتوانست اخذ غذا را بطور معنی داری در زمان‌های ۳۰، ۶۰ و ۱۲۰ دقیقه پس از تزریق نسبت به گروه کنترل تغییر دهد (۰/۰۵ >p، نمودار۳).



نمودار ۳- اثر تزریق درون بطن مغزی Phoenixin-14 (۰/۸ نانومول) و SHU9119 (۰/۵ نانومول) بر اخذ غذای تجمعی در جوجه های نوزاد گوشتی. داده ها بصورت میانگین ± انحراف معیار میانگین ارائه شده است (تعداد جوجه ها ۱۲ قطعه در هر گروه). SHU9119 : آنتاگونیست گیرنده های MC3/MC4.

در آزمایش چهارم تزریق فوئنکسین- ۱۴ با دوز تحت اثر ۰/۸ نانومول و MCL0020 با دوز تحت اثر ۰/۵ نانومول به تنهایی نتوانست اخذ غذا را نسبت به گروه کنترل تغییر دهد (p>۰/۰۵). همچنین تزریق هم‌زمان فوئنکسین- ۱۴ و MCL0020 نتوانست اخذ غذا را بطور معنی داری در زمان‌های ۳۰، ۶۰ و ۱۲۰ دقیقه پس از تزریق نسبت به گروه کنترل تغییر دهد (p> ۰/۰۵، نمودار۴).



نمودار ٤- اثر تزریق درون بطن مغزی Phoenixin-14 (۰/۸ نانومول) و MCL0020 (۰/۵ نانومول) بر اخذ غذای تجمعی در جوجه های نوزاد گوشتی. داده ها بصورت میانگین ± انحراف معیار میانگین ارائه شده است (تعداد جوجه ها ۱۲ قطعه در هر گروه). MCL0020: آنتاگونیست گیرنده MC4.

بحث

با توجه به اطلاعات موجود، در خصوص اثرات سینرژیستی بین کورتیکوتروپین و ملانوکورتین با دوز تحت اثر فوئنکسین- ۱۴ در کنترل مرکزی اخذ غذا در جوجه های نوزاد تاکنون مطالعه ای انجام نشده است. نوروپپتید ۲۰ اسید آمینه ای فوئنکسین تا حد زیادی در بین

گونه های مختلف حفظ شده است و بیشترین میزان آن در هیپوتالاموس یافت شده است. سلول هایی در آمیگدال مرکزی رت کشف شده اند که فوئنکسین را بیان می کنند (۲۳) تحقیقات نشان داده اند که تزریق داخل مغزی بطنی فوئنکسین ۱۴ در رت ها طی فاز روشنایی موجب افزایش اشتها می شود اما در فواصل بین وعده‌های غذایی مصرف غذا را کاهش می دهد (۹) در این رابطه ، تزریق موجب افزایش مقدارغذای دریافت شده و مدت زمان صرف شده برای غذا شد درحالی که تزریق در طی فاز تاریکی اثری بر اشتها نداشت. علاوه بر این تزریق فوئنکسین در طی فاز روشنایی موجب افزایش مصرف آب شد اما اثر معنی داری مشاهده نشد. همچنین نشان داده شده است که تزریق داخل وریدی فوئنکسین-۱۴ نه تنها در فاز تاریکی بلکه در فاز روشنایی هم نتوانسته مصرف غذا را تغییر دهد (۱۰). سایر مطالعات نشان می دهد فوئنکسین اثرات افزایش دهنده اشتها در رت و جوجه داشته است (۹,۱۱). در این رابطه نشان داده شده که تزریق داخل مغزی بطنی فوئنکسین- ۱۴ در جوجه های نوزاد می تواند مصرف غذا را افزایش دهد. گیرندهای کورتیکوتروپینی CRF1 وCRF2 در تنظیم مصرف غذا نقش دارند. در این رابطه نشان داده شده که تحریک این گیرنده ها مصرف غذا را کاهش می دهد (۱۴). همچنین تزریق داخل مغزی بطنی آنتاگونیست گیرنده های CRF1/ CRF2 در رت و جوجه مصرف غذا را تنظیم می کند (۱۶,۲۴,۲۵). سیستم ملانوکورتینرژیک یکی از سیستم های نوروترانسمیتری مغزی می باشد که در تنظیم فرآیندهای مغزی از قبیل تنظیم اشتها، تنظیم حرارت بدن و یادگیری نقش دارد. حضور گیرنده های سیستم ملانوکورتین پیش تر در سیستم اعصاب مرکزی و اعصاب محیطی پستانداران و پرندگان به اثبات رسیده است. تزریق درون مغزی بطنی آگونیست گیرنده‌های ملانوکورتینی مصرف غذا را کاهش می‌دهد در حالی که تزریق درون مغزی بطنی آنتاگونیست گیرنده‌های MC3/MC4 و آنتاگونیست گیرنده MC4مصرف غذا را افزایش می‌دهد (۱۶). همه مطالب فوق نشان دهنده تأثیر فوئنکسین- ۱۴، کورتیکوتروپین و ملانوکورتین بر اخذ غذا می‌باشد. در رابطه با ارتباط فوئنکسین- ۱۴ با سیستم های کورتیکوتروپینی و ملانوکورتینی در مطالعه قبلی ما نشان داده شد که فوئنکسین- ۱۴ با دوز موثر توانست مصرف غذا را در جوجه های نوزاد افزایش دهد و این افزایش مصرف غذا توسط آنتاگونیست گیرنده های CRF1/ CRF2 تقویت شد اما آنتاگونیست گیرنده های MC3/MC4 تاثیری بر افزایش مصرف غذای ناشی از فوئنکسین- ۱۴ نداشت. بنابراین این نتایج ارتباط بین فوئنکسین- ۱۴ با کورتیکوتروپین را نشان داد به طوری که می توان گفت افزایش اخذ غذای ناشی از فوئنکسین- ۱۴ احتمالا از طریق گیرنده های کورتیکوتروپینی میانجی گری می شود (۱۱). اما در خصوص ارتباط بین گیرنده های سیستم کورتیکوتروپینی و ملانوکورتینی با دوز تحت اثر فوئنکسین- ۱۴ در کنترل اخذ غذا در جوجه های نوزاد تا به حال مطالعه ای انجام نشده است. از طرف دیگر دو جمعیت نورونی درون هسته قوسی سیگنال های تنظیم وضعیت تغذیه ای بدن را تلفیق می کنند. یکی از این شبکه ها دریافت غذا را از طریق بیان ژن POMC مهار و دیگری دریافت را از طریق تنظیم بیان ژن NPY تحریک میکند (۱، ۲، ۳). در این هسته گروهی از نورون های

اورکسیژنیک شامل NPY و AGRP بیان می شوند، سیگنالهای آنورکسیژنیک مربوط به گروه دوم نورون های هسته قوسی است که شامل نورون های POMC و CART می باشند (۱، ۲، ۳) . در هنگام گرسنگی سطوح mRNA NPY در هسته قوسی افزایش می یابد که همزمان با افزایش محتویNPY و آزادسازی آن به هسته مجاور بطنی هیپوتالاموس است (۳). همچنین فوئنکسین، نسفانتین و Kiss peptin ها تشابه ساختمانی بسیار زیادی دارند و برخی اثرات آنها بواسطه یکدیگر میانجی گری می شود. مشخص شده است که فوئنکسین از طریق NPY موجب افزایش اشتها و حتی آب می شود (۵، ۶). همچنین تقابل عملی بین فوئنکسین و نسفانتین در مراکز دخیل در کنترل اشتها وجود دارد بطوریکه فوئنکسین موجود در هسته مجاور بطنی موجب تحریک نورون های کورتیکوتروپینی و فوئنکسین موجود در هسته کمانی موجب تحریک NPY و AgRP می شود (۱۰، ۱۱، ۲۳).

در مطالعه حاضر ارتباط بین فوئنکسین- ۱۴ با کورتیکوتروپین و ملانوکورتین بررسی شد با این تفاوت که از دوز تحت اثر فوئنکسین- ۱۴ استفاده شد که با توجه به نتایج بدست آمده، تزریق داخل مغزی بطنی فوئنکسین- ۱۴ با دوز تحت اثر ۰/۸ نانومول و آنتاگونیست گیرنده های CRF1 و CRF2 (Astressin-B) با دوز تحت اثر ۳۰ میکروگرم به تنهایی نتوانست اخذ غذا را نسبت به گروه کنترل تغییر دهد اما تزریق همزمان فوئنکسین- ۱۴ و Astressin-B بطور معنی داری موجب افزایش اخذ غذا شد. همچنین تزریق فوئنکسین- ۱۴ با دوز تحت اثر ۰/۸ نانومول و آنتاگونیست گیرنده CRF2 (Astressin-2B) با دوز تحت اثر ۳۰ میکروگرم به تنهایی تاثیری در اخذ غذا نداشت در حالیکه تزریق همزمان فوئنکسین- ۱۴ و Astressin-2B بطور معنی داری موجب افزایش اخذ غذا شد. تزریق فوئنکسین- ۱۴ با دوز تحت اثر ۰/۸ نانومول و آنتاگونیست گیرنده های MC3/MC4 (SHU9119) با دوز تحت اثر ۰/۵ نانومول هم به صورت تزریق جداگانه و هم به صورت تزریق همزمان SHU9119 با فوئنکسین- ۱۴ نتوانست اخذ غذا را بطور معنی داری تغییر دهد. همچنین تزریق فوئنکسین- ۱۴ با دوز تحت اثر ۰/۸ نانومول و آنتاگونیست گیرنده MC4 (MCL0020) با دوز تحت اثر ۰/۵ نانومول هم به صورت تزریق جداگانه و هم به صورت تزریق همزمان MCL0020 با فوئنکسین- ۱۴ نتوانست اخذ غذا را بطور معنی داری تغییر دهد.

نتیجه گیری

بنابراین مطالعه حاضر نشان می دهد یک اثر سینرژیستی و هم افزایی بین کورتیکوتروپین و فوئنکسین- ۱۴ در کنترل مرکزی اخذ غذا در جوجه های نوزاد وجود دارد که می‌تواند پایه‌ای برای مطالعات بعدی در زمینه تنظیم مرکزی اشتها در جوجه‌ها باشد هر چند تحقیقات بیشتری برای مشخص شدن مسیر (های) مولکولی این تعامل مورد نیاز است.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله نویسندگان از همکاری آزمایشگاه مرکزی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران در به ثمر رسیدن این تحقیق تشکر و قدردانی می کنند.

تعارض منافع

نویسندگان این مقاله تعارض در منافع ندارند.

فهرست منابع

1. 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 May 4;58(3):298-304.

2. 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 May 4;58(3):298-304.

3. Rahmani B, Ghashghayi E, Zendehdel M, Khodadadi M, Hamidi B. The crosstalk between brain mediators regulating food intake behavior in birds: a review. International Journal of Peptide Research and Therapeutics. 2021 Dec;27(4):2349-70.

4. Billert M, Rak A, Nowak KW, Skrzypski M. Phoenixin: more than reproductive peptide. International journal of molecular sciences. 2020 Nov 8;21(21):8378.**5.** Jiang JH, He Z, Peng YL, Jin WD, Mu J, Xue HX, Wang Z, Chang M, Wang R. Effects of Phoenixin-14 on anxiolytic-like behavior in mice. Behavioural brain research. 2015 Jun 1;286:39-48.

6. Rajeswari JJ, Blanco AM, Unniappan S. Phoenixin-20 suppresses food intake, modulates glucoregulatory enzymes, and enhances glycolysis in zebrafish. American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology. 2020 May 1;318(5):R917-28.

7. Kalamon N, Błaszczyk K, Szlaga A, Billert M, Skrzypski M, Pawlicki P, Górowska–Wójtowicz E, Kotula–Balak M, Błasiak A, Rak A. Levels of the neuropeptide phoenixin-14 and its receptor GRP173 in the hypothalamus, ovary and periovarian adipose tissue in rat model of polycystic ovary syndrome. Biochemical and biophysical research communications. 2020 Aug 6;528(4):628-35.

8.Sparling B. *Investigating and characterizing phoenixin and tachykinin receptor-3 in the reproductive axis of the chicken, Gallus gallus* (Doctoral dissertation, University of Guelph)..

9. Schalla M, Prinz P, Friedrich T, Scharner S, Kobelt P, Goebel-Stengel M, Rose M, Stengel A. Phoenixin-14 injected intracerebroventricularly but not intraperitoneally stimulates food intake in rats. Peptides. 2017 Oct 1;96:53-60.

10. Friedrich T, Schalla MA, Scharner S, Kühne SG, Goebel-Stengel M, Kobelt P, Rose M, Stengel A. Intracerebroventricular injection of phoenixin alters feeding behavior and activates nesfatin-1 immunoreactive neurons in rats. Brain Research. 2019 Jul 15;1715:188-95.

11. Rajaei S, Zendehdel M, Rahnema M, Hassanpour S, Asle-Rousta M. Mediatory role of the central NPY, melanocortine and corticotrophin systems on phoenixin-14 induced hyperphagia in neonatal chicken. General and comparative endocrinology. 2022 Jan 1;315:113930.

12. Schalla MA, Goebel-Stengel M, Friedrich T, Kühne SG, Kobelt P, Rose M, Stengel A. Restraint stress affects circulating NUCB2/nesfatin-1 and phoenixin levels in male rats. Psychoneuroendocrinology. 2020 Dec 1;122:104906.

13. Silberman Y, Matthews RT, Winder DG. A corticotropin releasing factor pathway for ethanol regulation of the ventral tegmental area in the bed nucleus of the stria terminalis. Journal of Neuroscience. 2013 Jan 16;33(3):950-60.

14. Yamada H, Bruijnzeel AW. Stimulation of α2-adrenergic receptors in the central nucleus of the amygdala attenuates stress-induced reinstatement of nicotine seeking in rats. Neuropharmacology. 2011 Feb 1;60(2-3):303-11.

15. Stengel A, Goebel M, Wang L, Rivier J, Kobelt P, Mönnikes H, Lambrecht NW, Tache Y. Central nesfatin-1 reduces dark-phase food intake and gastric emptying in rats: differential role of corticotropin-releasing factor2 receptor. Endocrinology. 2009 Nov 1;150(11):4911-9.

16. Ahmadi F, Zendehdel M, Babapour V, Panahi N. CRF 1/CRF 2 and MC 3/MC 4

Receptors Affect Glutamate-Induced Food Intake in Neonatal Meat-Type Chicken. Brazilian Journal of Poultry Science. 2019 May 9;21.

17. Zendehdel M, Hamidi F, Babapour V, Mokhtarpouriani K, Fard RM. The effect of melanocortin (Mc3 and Mc4) antagonists on serotonin-induced food and water intake of broiler cockerels. Journal of veterinary science. 2012 Sep 1;13(3):229-34.

18. Kord A, Vazir B, Zendedel Kheybari M, Babapour V, Asghari A. Interaction of Central Kisspeptin with Melanocortin, GABAergic, Corticotrophin, and NPY Systems on Food Intake in Chickens. Iranian Journal of Veterinary Science and Technology. 2022 Apr 30.

19. Shalikar M, Zendehdel M, Vazir B, Asghari A. Impact of the Central Histaminergic and Melanocortin Systems on Leptin-Induced Hypophagia in Neonatal Layer Chicken. Archives of Razi Institute. 2021 Dec 1;76(6):1735-44.

20. Alimohammadi S, Zendehdel M, Babapour V. Modulation of opioid-induced feeding behavior by endogenous nitric oxide in neonatal layer-type chicks. Veterinary research communications. 2015 Jun;39(2):105-13.

21. van Tienhoven AT, Juhasz LP. The chicken telencephalon, diencephalon and mesencephalon in stereotaxic coordinates. Journal of Comparative Neurology. 1962 Apr;118(2):185-97.

22. Saito ES, Kaiya H, Tachibana T, Tomonaga S, Denbow DM, Kangawa K, Furuse M. Inhibitory effect of ghrelin on food intake is mediated by the corticotropin-releasing factor system in neonatal chicks. Regulatory peptides. 2005 Feb 15;125(1-3):201-8.

23. Prinz P, Scharner S, Friedrich T, Schalla M, Goebel-Stengel M, Rose M, Stengel A. Central and peripheral expression sites of phoenixin-14 immunoreactivity in rats. Biochemical and biophysical research communications. 2017 Nov 4;493(1):195-201.

24. Finelli C, Martelli G, Rossano R, Padula MC, La Sala N, Sommella L, Tarantino G. Nesfatin-1: role as possible new anti-obesity treatment. Excli Journal. 2014;13:586.

25. Tache Y, Larauche M, Yuan PQ, Million M. Brain and gut CRF signaling: biological actions and role in the gastrointestinal tract. Current molecular pharmacology. 2018 Feb 1;11(1):51-71.

Journal of Animal Physiology and Development
Volume 15, Issue 4, Number 60, Pages 1-12
Qjaphd.sinaweb.net **ISSN: 9880-**

Investigation of Synergistic Effects of Corticotropin and Melanocortin receptors with Sub-Effective Dose of Phoenixin-14 on Food Intake in Neonatal Chickens

Sahar Rajaei [1], Morteza Zendehdel [2*], Mehdi Rahnema [3], Shahin Hassanpour [4], Masoumeh Asle-Rousta [5]

1-PhD.student, Department of Physiology, Zanjan Branch, Islamic Azad University, Zanjan, Iran.
2-Associated Professor, Division of Physiology, Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran. Corresponding author: zendedel@ut.ac.ir
3- Associated Professor, Department of Physiology, Zanjan Branch, Islamic Azad University, Zanjan, Iran.
4- Associated Professor, Division of Physiology, Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
5-Assistant Proffesor, Department of Physiology, Zanjan Branch, Islamic Azad University, Zanjan, Iran.

Received:2022.04. 20 **Accepted: 2022.06.15**

Abstract

Introduction & Objective: Various peptides are involved in food intake regulation in the bird and mammalian brain. Melanocortin and corticotropin play an important role in food intake control. On the other hand, phoenixin-14 increases food intake. This study aimed to investigate the synergistic effects of corticotropin and melanocortin with a sub-effective dose of phoenix -14 on food intake in neonatal chickens.

Materials and Methods: A total of one hundred and ninety-two neonatal chicks were randomly divided into three experimental groups. Each experiment had a control group and three treatment groups (n=12 in each

group). In all experiments, 3-hours food-deprived birds received intracerebroventricular injections of either control diluent or drug solution. Then the birds had *ad libitum* access to the food and fresh water, and then cumulative food intake (gr) was measured based on the percentage of the body. In the first experiment, control solution, phoenixin-14 **(**0.8 nmol), Astressin-B (CRF1/CRF2 receptor antagonist; 30 µg), and phoenixin-14 + Astressin-B were injected. In the second experiment, control solution, phoenixin-14, Astressin-2B (CRF2 receptor antagonist; 30 µg), and phoenixin-14 + Astressin-2B were injected. In the third experiment, control solution, phoenixin-14 (0.8 nmol), SHU9119 (MC3/MC4 receptor antagonist; 0.5 nmol), and phoenixin-14 + SHU9119 were injected. In the fourth experiment, control solution, phoenixin-14 (0.8 nmol), MCL0020 (MC4 receptor antagonist; 0.5 nmol), and phoenixin-14 + MCL0020 were injected.

Results: The results showed that co-inject ion of phoenixin-14 + Astressin-B and phoenixin-14 + Astressin-2B significantly increased food intake($p<0.05$), while co-injection of phoenixin-14 + SHU9119 and phoenixin-14 + MCL0020 had no effect($p>0.05$).

Conclusion: According to the results of the present study, there is probably a synergistic effect between phoenixin-14 and corticotropin system on food intake control of neonatal chicks.

Keywords: Corticotropin, Melanocortin, Phoenixin-14, Food Intake, Chicken.