



## تأثیر تزریق داخل تخم مرغی گرلین بر فعالیت آنزیم لوسین آمینوپپتیداز مخاط روده کوچک جوجه های گوشتی

جمشید قیاسی قلعه کندی<sup>۱\*</sup>، حبیب اقدم شهریار<sup>۱</sup>، یحیی ابراهیم نژاد<sup>۱</sup>، رامین سلامت دوست نوبر<sup>۱</sup>، رحیم بهشتی<sup>۱</sup>، علیرضا لطفی<sup>۲</sup>

۱- عضو هیئت علمی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شبستر ۲- عضو باشگاه پژوهشگران جوان واحد شبستر

نویسنده مسئول: جمشید قیاسی قلعه کندی [ghiasi\\_jam@yahoo.com](mailto:ghiasi_jam@yahoo.com)

### چکیده

این مطالعه با هدف بررسی اثرات تزریق داخل تخمی گرلین بر فعالیت آنزیم لوسین آمینوپپتیداز مخاط روده کوچک جوجه های گوشتی انجام پذیرفت. تعداد ۹۰۰ تخم مرغ نطفه دار به صورت تصادفی انتخاب و به پنج گروه آزمایشی در سه تکرار ۶۰ تایی شامل گروه شاهد یا (بدون هیچ نوع تزریق)، گروه دوم (تزریق داخل تخمی ۰/۵ سی سی محلول پایه)، گروه سوم (تزریق داخل تخمی ۵۰ میکروگرم گرلین)، گروه چهارم (۱۰۰ میکروگرم گرلین) و گروه پنجم (تخمی ۱۵۰ میکروگرم گرلین) تقسیم شدند. در روز هفتم تزریقات داخل تخم مرغی انجام گردید و در روزهای ۲۱ و ۴۲ دوره پرورش از قسمت های مختلف روده باریک نمونه برداری شده و فعالیت آنزیم لوسین آمینوپپتیداز مخاط روده کوچک اندازه گیری گردید. نتایج نشان داد که تزریق داخل تخم مرغی ۵۰ میکروگرم گرلین در سنین مختلف در قسمت های متفاوت روده بیشترین تاثیر را بر فعالیت آنزیم لوسین آمینوپپتیداز دارد به نظر می رسد که تزریق داخل تخمی هورمون گرلین با افزایش ترشح هورمون رشد و آنزیم پلی پپتیداز روده ای باعث افزایش فعالیت آنزیم لوسین آمینوپپتیداز در قسمت های مختلف روده ای می شود و در نهایت منجر به بهبود هضم و جذب پروتیین ها در سنین مختلف می گردد. بنابراین تزریق داخل تخم مرغی ۵۰ میکروگرم گرلین پیشنهاد می گردد. واژگان کلیدی: گرلین، تزریق تخم مرغی، لوسین آمینوپپتیداز، روده باریک و جوجه گوشتی.

### مقدمه

از زمان کشف هورمون گرلین توسط کوجیما و همکاران (۱۹۹۹) بیش از ده سال می گذرد، باوجود این تاکنون بسیاری از عملکردهای این پپتید تنظیم گر به طور جامع بررسی نشده و تمرکز بسیاری از مطالعات در دهه گذشته بر روی دو نقش عمده گرلین (تحریک ترشح هورمون رشد و تنظیم مصرف خوراک) بوده است (۱۰، ۱۱). برای اولین بار کای یا و همکاران (۲۰۰۷) پپتید گرلین را از چینه دان مرغ جداسازی کردند. ساختمان گرلین مرغ خانگی دارای توالی ۲۶ اسید آمینه ای می باشد. قسمت اصلی تولید کننده هورمون گرلین در طیور بین چینه دان و سنگدان (پیش معده) است. اثر عمده گرلین در طیور، تحریک هورمون رشد است. در واقع گرلین ((پپتید محرک ترشح هورمون رشد)) است که در این رابطه، در پرندگان تزریق درون وریدی گرلین سبب افزایش هورمون رشد پلازما شده و هایپرگرلینمی القایی در شرایط *in vivo* و *in vitro* تکثیرپذیری سوماتوتروپ ها را تشدید نموده است (۳ و ۴).



لوسین آمینوپپتیداز آنزیم رأس مسواکی و سیتوزولی می باشد که از انتهای زنجیره بلند پپتیدی، پپتیدهای کوچک تر و آمینواسیدها را هیدرولیز می کند و فعالیت پپتیدازها منجر به هضم پروتئین های موجود در جیره غذایی می شود (۱)، با توجه به مشخص شدن نقش گرلین در افزایش هورمون رشد و تاثیر بر حرکات دستگاه گوارشی و افزایش ترشح اسید معده و آنزیم پلی پپتیداز و برخی از هورمون های گوارشی (۲، ۳ و ۴)، این مطالعه با هدف بررسی تزریق داخل تخمی گرلین در طول دوره جوجه کشی بر فعالیت آنزیم لوسین آمینوپپتیداز مخاط روده باریک و تاثیر آن بر هضم پروتئین ها در جوجه های گوشتی برای اولین بار انجام گردید.

### مواد و روش ها

در این آزمایش، ۹۰۰ تخم مرغ بارور نژاد گوشتی از گله مادر با وزن حدود ۶۰ گرم جمع آوری شده و به صورت تصادفی به ۵ تیمار و هر تیمار به ۳ تکرار ۶۰ قطعه ایی تقسیم گردید و در روز هفتم تزریقات در داخل سفیده تخم مرغ انجام گردید. گروه های آزمایشی شامل پنج تیمار می باشد. تیمار ۱: شاهد یا تخم مرغ هایی که در شرایط عادی انکوباسیون شده و هیچ تزریقی در آنها انجام نخواهد گرفت. تیمار ۲: تزریق داخل تخم ۰/۵ سی سی محلول پایه (اسید استیک ۳ درصد) و تیمار ۳: تزریق داخل تخم ۵۰ میکروگرم گرلین و تیمار ۴: تزریق داخل تخم ۱۰۰ میکروگرم گرلین و تیمار ۵: تزریق داخل تخم ۱۵۰ میکروگرم گرلین. بعد از انکوباسیون جوجه ها به صورت تصادفی به ۵ تیمار و هر تیمار به ۳ تکرار ۲۰ قطعه ایی تقسیم شد. و همه گروه ها در شرایط یکسان از لحاظ دمایی، تغذیه ایی، نوری و پرورشی در سالن مرغداری دانشگاه آزاد شبستر و در قفس نگهداری شدند. در پایان دوره پرورشی در روزهای ۲۱ و ۴۲ دوره پرورش، پس از ۳ ساعت محرومیت از غذا از هر قفس ۲ قطعه جوجه به طور تصادفی انتخاب، کشتار شده و به سرعت از ۱، ۱۰، ۳۰، ۵۰، ۷۰ و ۹۰ درصد طول روده کوچک نمونه هایی جهت بررسی فعالیت آنزیمی برداشته شد. برای اندازه گیری فعالیت آنزیم لوسین آمینوپپتیداز از روش نیجل و همکاران (۱۹۶۴) استفاده شد ضمناً برای اندازه گیری فعالیت آنزیم لوسین آمینوپپتیداز نیاز به اندازه گیری پروتئین تام می باشد که از روش پیروگالول استفاده گردید میزان فعالیت آنزیم هر نمونه به مقدار پروتئین تام آن نمونه تقسیم گردید تا میزان فعالیت آنزیم، بر حسب (واحد بین المللی در لیتر بر گرم پروتئین) بدست آید (۵ و ۷). نتایج حاصل از تحقیق با استفاده از مدل خطی نرم افزار SAS و آنالیز واریانس چند طرفه مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. مقایسه میانگین تیمارها با استفاده از آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد صورت گرفت (۶).



## نتایج و بحث

جدول شماره ۱- مقایسه میانگین فعالیت آنزیم لوسین آمینوپپتیداز در سن ۲۱ روزگی از قسمت های ۱، ۱۰، ۳۰، ۵۰، ۷۰ و ۹۰ درصد طول روده کوچک در گروههای شاهد و آزمایش بر حسب واحد بین المللی برگرم پروتئین (انحراف معیار  $\pm$  میانگین)

طول روده	۱ درصد	۱۰ درصد	۳۰ درصد	۵۰ درصد	۷۰ درصد	۹۰ درصد
تیمار						
شاهد	۲۸۶۴/۴ $\pm$ ۳۹۵/۵	۳۰۹۲/۷ $\pm$ ۸۵۵/۹	۲۱۴۱/۳ $\pm$ ۴۰۷/۳	۳۹۸۱/۲ <sup>ab</sup> $\pm$ ۳۵۴/۷	۵۳۷۱ $\pm$ ۴۴۲/۴	۵۱۱۳/۴ $\pm$ ۷۷۰/۹
محلول پایه	۲۷۹۸/۹ $\pm$ ۴۱۵/۳	۲۹۲۲ $\pm$ ۱۴۰/۷	۲۱۲۳/۲ $\pm$ ۳۷۱/۶	۳۳۴۳/۹ <sup>b</sup> $\pm$ ۵۱۱۱/۴	۴۳۴۶/۵ $\pm$ ۴۱۵/۹	۵۱۸۸/۹ $\pm$ ۲۲۲/۷
۵۰ میکروگرم	۳۰۷۱/۴ $\pm$ ۱۰۱	۳۰۴۸/۳ $\pm$ ۸/۱	۱۹۸۵/۹ $\pm$ ۶۰	۴۷۷۹/۳ <sup>a</sup> $\pm$ ۶۱۷/۲	۵۰۱۳/۴ $\pm$ ۱۲۶۶/۷	۴۷۸۱/۳ $\pm$ ۳۰۹/۴
۱۰۰ میکروگرم	۲۷۱۵ $\pm$ ۴۹۸	۲۷۱۹/۱ $\pm$ ۵۳۳/۱	۲۰۰۰/۵ $\pm$ ۶۲/۶	<b>586۳/۸</b> <sup>ab</sup> $\pm$ ۴۱۷/۵	۳۸۵۰/۲ $\pm$ ۷۴۳/۲	۴۴۲۶/۳ $\pm$ ۱۰۵۶/۳
۱۵۰ میکروگرم	۲۶۲۶/۷ $\pm$ ۱۱۹/۳	۳۵۲۰/۴ $\pm$ ۸۰۹/۱	۲۶۶۶/۹ $\pm$ ۴۹۱/۳	۴۵۹۵/۶ <sup>a</sup> $\pm$ ۵۱۵/۸	۴۷۸۹/۲ $\pm$ ۱۴۴	۴۳۱۴/۶ $\pm$ ۲۳۰/۱

جدول شماره ۲- مقایسه میانگین فعالیت آنزیم لوسین آمینوپپتیداز در سن ۴۲ روزگی از قسمت های ۱، ۱۰، ۳۰، ۵۰، ۷۰ و ۹۰ درصد طول روده کوچک در گروههای شاهد و آزمایش بر حسب واحد بین المللی برگرم پروتئین (انحراف معیار  $\pm$  میانگین)

طول روده	۱ درصد	۱۰ درصد	۳۰ درصد	۵۰ درصد	۷۰ درصد	۹۰ درصد
تیمار						
شاهد	۲۷۲۸/۵ <sup>b</sup> $\pm$ ۳۷۷/۱	۲۹۶۰ $\pm$ ۱۹۷/۵	۳۷۰۲/۴ <sup>ab</sup> $\pm$ ۵۶۲	۳۲۷۹/۱ <sup>b</sup> $\pm$ ۴۷۰	۳۹۵۶/۶ $\pm$ ۱۳۰۱/۶	۵۰۶۴/۶ $\pm$ ۹۲۳/۱
محلول پایه	۲۶۲۷ <sup>b</sup> $\pm$ ۵۰۳/۳	۲۴۹۵/۳ $\pm$ ۴۸۵/۱	۳۱۰۳/۳ <sup>b</sup> $\pm$ ۱۹۶/۱	۳۴۷۵/۸ <sup>b</sup> $\pm$ ۲۲۹/۵	۴۸۵۰/۸ $\pm$ ۳۱۵	۴۵۸۸/۵ $\pm$ ۶۵۶/۹
۵۰ میکروگرم	۳۷۱۳ <sup>a</sup> $\pm$ ۳۹۱/۹	۳۵۷۹/۶ $\pm$ ۶۸۶/۵	۳۸۲۰/۳ <sup>ab</sup> $\pm$ ۱۴۹	۴۸۵۶/۹ <sup>a</sup> $\pm$ ۵۰۱/۳	۵۴۰۷/۲ $\pm$ ۶۹۷/۱	۵۴۴۸/۳ $\pm$ ۱۲۵۹/۸
۱۰۰ میکروگرم	۲۴۷۵/۱ <sup>b</sup> $\pm$ ۴۲۸/۱	۲۹۵۲/۱ $\pm$ ۲۹۲/۴	3958/۸ <sup>ab</sup> $\pm$ ۵۸/۲	۴۵۰۱/۱ <sup>ab</sup> $\pm$ ۱۵۱/۴	۵۳۷۲/۹ $\pm$ ۱۱۹۷/۶	۴۲۷۳/۶ $\pm$ ۹۲۷/۴
۱۵۰ میکروگرم	۲۵۷۳/۷ <sup>b</sup> $\pm$ ۳۸۸/۴	۳۴۳۱/۹ $\pm$ ۵۶۶/۵	۴۶۶۶/۹ <sup>a</sup> $\pm$ ۵۷۷/۴	۴۱۱۷/۴ <sup>ab</sup> $\pm$ ۳۹۳/۹	۴۴۶۹/۴ $\pm$ ۲۲۰/۱	۴۷۶۷/۴ $\pm$ ۶۴۳/۳

a و b و ... در هر ستون، میانگین هایی که واژه یا واژه های همانند دارند، تفاوت آماری معنی داری ندارند ( $P > 0.05$ ).

جدول ۱ و ۲ میانگین فعالیت آنزیم لوسین آمینوپپتیداز را نشان می دهد تزریق داخل تخم مرغی سطوح مختلف گرلین در گروههای کنترل افزایش معنی داری نسبت به گروه شاهد و پایه نشان می دهد تزریق داخل تخم مرغی سطوح مختلف گرلین تاثیرات متفاوتی در گروهها و قسمت های مختلف روده نشان می دهد. ساختار اولیه گرلین از نظر شکل و توالی اسید آمینه ای شبیه به هورمون موتیلین است در واقع، گرلین دارای اثر شبه موتیلین در دستگاه گوارش بوده و سیستم موتور مجرای گوارشی فعال می کند. نشان داده شده که گرلین باعث افزایش هورمون رشد، هورمون آدرنوکورتیکوتروپین، آزاد سازی پرولاکتین، تغذیه، ترشح اسید معده، حرکات معده، تکثیر سلول ها می شود. به نظر می رسد که هورمون گرلین با افزایش ترشح هورمون رشد، آنزیم پلی پپتیداز و اسید معده باعث هضم اولیه پروتئین ها و افزایش فعالیت آنزیم لوسین آمینوپپتیداز در قسمت های مختلف روده ای می شود و در نهایت منجر به بهبود هضم و جذب پروتئین ها در سنین مختلف می گردد.



## نتیجه گیری کلی

تزریق داخل تخم مرغی ۵۰ میکروگرم گرلین پیشنهاد می گردد.

## منابع

- 1- Burrin D.G, Dudley M.A, Reeds P.J, Shulman R.J, Perkinson S, and Rosenberger J. 1994 . Feeding colostrum rapidly alters enzymatic activity and relative isoform abundance of jejunal lactase in neonatal pigs. *J. Nutr.*, 124: 2350-2357.
- 2- Kaiya H, Veerle M, Darras M, Kangawa, K. 2007. Ghrelin in birds: Its structure, distribution and function. *J. Poult. Sci.*, 44: 1-18.
- 3- Kitazawa T., Kaiya H, Taneike, T. 2007. Contractile effects of ghrelin-related peptides on the chicken gastrointestinal tract in vitro. *peptides*, 28; 617 – 624.
- 4- Korbonits, M., A.P. Goldston, M. Gueorguiev, and A.B. Grossman, 2004 .ghrelin-A hormone with multiple functions. *Frontiers in neuroendocrinology*, 25:27-68.
- 5- Nagel W., Willing F. Schmidt F.H. 1964. Fur die Aminosauarearylamidase (sog. Leucinaminopeptidase-) Aktivitat im menschlichen Serum. *Klin. Wschr.*, 42: 447-459.
- 6- SAS Institute. 2001 . SAS state software. Changes and Enhancement through release 8.2. SAS institute, Inc., Cary, N.C.
- 7- Watanaba N, Kamel S, Ohkubo A, Yamanaka M, Ohsaws S, Maikino K, and Tokuda K. 1986. Method for Assaying Total Protein. *Clinical Chemistry*, 32: 1551-1554.



---

***In ovo administration of ghrelin and subsequent intestinal Leucine Aminopeptidase (LAP) activity in broiler chickens***

<sup>1</sup>Jamshid Ghiasi Ghaleh-kandi, <sup>1</sup>Habib Aghdam Shahryar, <sup>1</sup>Yahya Ebrahimmazhad,  
<sup>1</sup>Ramin salamatdoust Nobar, <sup>1</sup>Rahim Beheshti, <sup>2</sup>Alireza Lotfi

1- Department of Animal Science, Islamic Azad University, Shabestar Branch,  
Shabestar, Iran

2- Young Researchers Club, Islamic Azad University, Shabestar Branch, Shabestar, Iran

Corresponding author: Jamshid Ghiasi Ghaleh-kandi, Email:  
[ghiasi\\_jam@yahoo.com](mailto:ghiasi_jam@yahoo.com)

**Abstract**

Aim of this study was to investigation on effect of *in ovo* administration of ghrelin on subsequent Leucine aminopeptidase (LAP) activity in broiler chickens. In this experiment 900 fertilized eggs were collected from commercial breeder flock. The eggs were divided into five experimental groups; control T1 (without injection), group T2 (*in ovo* injected with solution), group T3 (*in ovo* injected with 50 µg/egg ghrelin), group T4 (*in ovo* injected with 100 µg /egg ghrelin) and group T5 (*in ovo* injected with 150 µg /egg ghrelin). All of groups were incubated. *In ovo* injection was done at day 7 of incubation. In days 21 and 42 of the rearing period, 2 broilers from every group of each replicate have been chosen and slaughtered. Hastily, samples of small intestines for evaluation of LAP enzyme activity. , these findings demonstrated stimulatory effects of ghrelin in low doses (50 microgram) in chicken intestine LAP activity. LAP activity leads to the digestion of the pteins in the diet. Therefore suggested *in ovo* injected with 50 µg/egg ghrelin

**Key words: Ghrelin, *In ovo* injection, Leucine Aminopeptidase (LAP), Intestine, Chicken.**