



## Effect of galanin on mean plasma levels of gonadotropins in female goats fed different levels of their energy requirements

Fateme Aboutalebi\*, Homayoun Khazali

Faculty of Biological Sciences, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran

Received: 26 Feb 2009

Revised: 7 Jun 2009

Accepted: 1 Jul 2009

### Abstract

**Introduction:** The existence of a close relationship between energy status and reproductive function is well documented, but its underlying mechanisms remain to be fully unfolded. Galanin is an orexigenic agent and has been demonstrated as putative regulator of gonadotropin secretion in rats. There is no study to show the interaction of different levels of energy intake and galanin on gonadotropins secretion in ruminants, therefore the goal of this study was to determine whether galanin affects the mean plasma concentrations of LH and FSH in the female Saanen goats fed diets with different energy contents.

**Methods:** Nine female Saanen goats were randomly divided into 3 groups. Animals were fed a diet containing 50%, 100% or 150% of their energy requirement for one month. After one month, goats received 1 µg galanin /kg body weight into their jugular vein. Blood samples were collected every 30 minutes from jugular vein of all goats 3.5h before and 3.5h after the injection of galanin. Blood plasma was assayed for plasma LH and FSH concentrations by RIA.

**Results:** Injection of galanin significantly decreased the mean plasma concentrations of LH and FSH only in the 150% dietary energy intake group, whereas in 50% and 100% dietary energy intake groups injection of galanin had no effect on plasma gonadotropin levels.

**Conclusion:** These results indicate that galanin may negatively affect mean plasma concentrations of LH and FSH only in female Saanen goats with positive energy balance.

**Keywords:** Galanin, Follicle Stimulating Hormone (FSH), luteinizing Hormone (LH), Saanen Goat.

\* Corresponding author e- mail: abutalebi22@yahoo.com  
tabeshyarnoor@yahoo.com

Available online @: www.phypha.ir/ppj

## تأثیر تزریق گالانین بر میانگین غلظت گونادوتروپین‌ها در بزهای ماده تغذیه شده با سطوح مختلف انرژی

فاطمه ابوطالبی<sup>۱\*</sup>، همایون خزعلی<sup>۲</sup>

۱. دانشکده علوم زیستی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران

۲. دانشکده علوم زیستی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران

دریافت: ۷ اسفند ۱۳۸۷ بازبینی: ۱۷ خرداد ۱۳۸۸ پذیرش: ۱۰ تیر ۱۳۸۸

### چکیده

**مقدمه:** وجود ارتباط بین وضعیت انرژی و عملکرد تولید مثل ثابت شده است اما تاکنون مکانیسم‌های اصلی آن مشخص نشده‌اند. گالانین پپتید ارکسیژنیک می‌باشد که در تنظیم ترشح گونادوتروپین‌ها در موش صحرایی نقش دارد. از آنجا که تاکنون میان‌کنش سطوح مختلف انرژی و تیمار با گالانین، بر ترشح گونادوتروپین‌ها در نشخوارکنندگان بررسی نشده، هدف از این مطالعه تعیین اثر گالانین در رژیم‌های با سطوح متفاوت انرژی بر میانگین غلظت هورمون لوتئینی و هورمون محرک فولیکولی در بزهای ماده نژاد سانن بود.

**روش‌ها:** بدین منظور، ۹ راس بزسان ماده بطور تصادفی انتخاب و به سه گروه تقسیم شدند. حیوانات در گروه ۱ با ۵۰٪ انرژی و در گروه ۲ با ۱۰۰٪ انرژی و در گروه ۳ با ۱۵۰٪ انرژی به مدت یکماه تغذیه شدند. بعد از یکماه، حیوانات در هر گروه ۱ میکروگرم گالانین به ازای هر کیلوگرم وزن بدن از طریق رگ وداج دریافت کردند. نمونه‌های خونی از تمام حیوانات ۳/۵ ساعت قبل و ۳/۵ ساعت بعد از تزریق هر ۳۰ دقیقه از رگ وداج جمع‌آوری گردید. پلاسمای خونی، جهت تعیین غلظت هورمون‌های لوتئینی و محرک فولیکولی با روش رادیوایمیونو اسی (RIA) مورد آزمایش قرار گرفت.

**یافته‌ها:** تزریق گالانین تنها در رژیم ۱۵۰٪ انرژی باعث کاهش معنادار میانگین غلظت هورمون‌های لوتئینی و محرک فولیکولی شد. در حالیکه در رژیم ۵۰٪ و ۱۰۰٪ انرژی، تزریق گالانین اثری بر میانگین غلظت هورمون لوتئینی و هورمون محرک فولیکولی نداشت.

**نتیجه‌گیری:** نتایج این آزمایش نشان می‌دهد که گالانین تنها در بالانس انرژی مثبت اثر کاهشی بر میانگین غلظت گونادوتروپین‌ها در بزهای سانن ماده دارد.

واژه‌های کلیدی: گالانین، هورمون محرک فولیکولی (FSH)، هورمون لوتئینی (LH)، بزسان.

### مقدمه

دستگاه عصبی مرکزی و محیطی بیان می‌شود [۳۳] و بیشترین غلظت آن در هیپوتالاموس و برجستگی میانی می‌باشد [۳۳]. گالانین در تنظیم فرایندهای فیزیولوژیکی مانند غذاخوردن، حفظ وزن بدن و رشد و تولید مثل نقش دارد [۳۴]. وجود نورون‌های گالانین در هسته‌های پره‌اپتیک و پاراوتتریکولار (که از مراکز مهم کنترل تولید مثل می‌باشند) و برجستگی میانی در گوسفندان ماده [۸] همچنین بیان گیرنده شماره ۱ گالانین (Galanin receptor 1 (GALR1) در نورون‌های

گالانین پپتید ۲۹ اسید آمینه‌ای است که اولین بار در سال ۱۹۸۳ از روده کوچک خوک استخراج شد [۳۷]. این پپتید در

\* نویسنده مسئول مکاتبات: abutalebi22@yahoo.com  
tabeshyarnoor@yahoo.com  
www.phypha.ir/ppj  
وبگاه مجله:

GnRH (Luteinizing hormone) تحریک شده با GnRH در موش صحرایی [۳۸]، هدف از این تحقیق، تعیین اثر تزریق درون‌رگی گالانین بر میانگین غلظت پلاسمایی هورمون لوتئینی و هورمون محرک فولیکولی در بزهای ماده نژاد سانن که با رژیم‌های متفاوت از لحاظ سطح انرژی تغذیه شده‌اند می‌باشد.

## مواد و روش‌ها

در این مطالعه ۹ راس بز ماده بالغ (۳ساله) نژاد سانن با وزن ۶۰ کیلوگرم استفاده شد. حیوانات در بهار بند جداگانه در شرایط نوری ۱۳ ساعت روشنایی و ۱۱ ساعت تاریکی در مرکز تحقیقات جهاد کشاورزی و منابع طبیعی یزد نگهداری شدند.

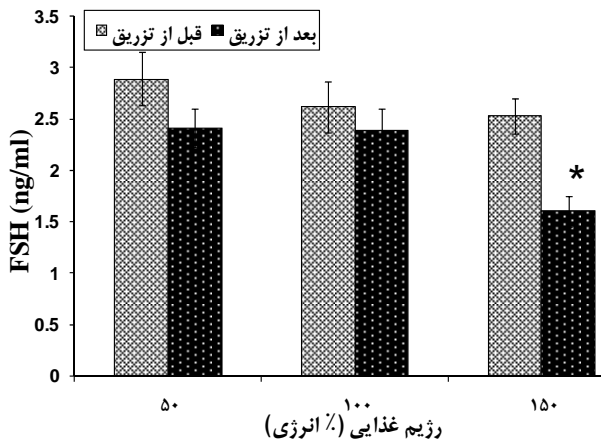
در این مطالعه از گالانین (Sigma, USA)، کیت مخصوص سنجش هورمون لوتئینی و هورمون محرک فولیکولی (شرکت تابش یارنور، همدان) و سالیین استفاده شده‌است.

۹ راس بز ماده بالغ نژاد سانن به طور تصادفی از یک گله بزسان انتخاب شده و به سه گروه تقسیم شدند. حیوانات در گروه ۱ ۵۰٪، در گروه ۲ با ۱۰۰٪ و در گروه ۳ با ۱۵۰٪ انرژی به مدت یک ماه تغذیه شدند. رژیم‌ها بر اساس سطوح انرژی و جداول از مینگر [۱۲] بود. رژیم ۵۰٪ (با سطح انرژی ۱/۷۳ مگا کالری) شامل ۴۰۰ گرم جو، ۱۰۰ گرم تفال چغندر قند و ۱ کیلوگرم یونجه بود. رژیم ۱۰۰٪ (با سطح انرژی ۲/۴۰ مگا کالری) شامل ۲۰۰ گرم ملاس، ۲۰۰ گرم تفال چغندر قند، ۷۰۰ گرم یونجه، ۱۰۰ گرم کنجاله سویا ۴۱٪ و ۷۰۰ گرم جو بود. رژیم ۱۵۰٪ (با سطح انرژی ۲/۵۸ مگا کالری) شامل ۱۰۰ گرم ملاس، ۱۰۰ گرم پودر چربی، ۲۰۰ گرم کنجاله سویا ۴۱٪، ۹۰۰ گرم یونجه و ۵۰۰ گرم جو بود. ترکیبات این رژیم‌ها با استفاده از جداول از مینگرو توسط دکتر امامی از مرکز تحقیقات جهاد کشاورزی و منابع طبیعی یزد تهیه شد. آب به صورت آزادانه در اختیار حیوانات قرار داشت. بعد از یکماه [۷] در روز آزمایش، پس از ۳/۵ ساعت خون‌گیری (در ساعت ۱۱ صبح) حیوانات در هر سه گروه ۱ میکروگرم گالانین به ازای هر کیلوگرم وزن بدن از طریق رگ وداج دریافت کردند [۳۳]. نمونه‌های خونی از تمامی حیوانات هر ۳۰ دقیقه [۲۴]، ۳/۵ ساعت قبل از تزریق گالانین (به عنوان کنترل) و ۳/۵ ساعت بعد از تزریق، با استفاده

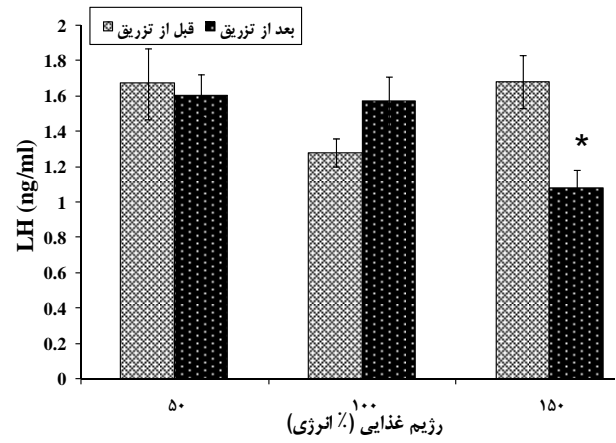
GnRH (Gonadotropin Releasing Hormone) گوسفند [۱۰] حاکی از نقش گالانین در تنظیم ترشح گونادوتروپین‌ها می‌باشد. مطالعات زیادی در زمینه اثرات فیزیولوژیک گالانین در تنظیم ترشح گونادوتروپین‌ها صورت گرفته‌است. نتایج حاصل از این مطالعات، حاکی از بی‌اثر بودن تزریق درون‌رگی گالانین بر غلظت پلاسمایی هورمون لوتئینی و هورمون محرک فولیکولی در انسان [۱، ۱۸]، افزایش اتصال GnRH به غشای سلول‌های هیپوفیز [۲۸]، مهار رها شدن زیر واحد آلفا در سلول‌های α T3-1 (Gonadotroph Derived Cell line) [۳۹] و بی‌اثر بودن تزریق داخل مغزی آن بر غلظت پلاسمایی هورمون لوتئینی در میمون [۱۵] بوده‌است. در آزمایشات *in vitro* تزریق گالانین تنها ترشح پایه هورمون لوتئینی رادرخوک افزایش داد [۱۱] در حالیکه در موش صحرایی ماده ترشح هورمون لوتئینی که با GnRH تحریک شده بود را مهار کرد [۳۸]. اما تزریق گالانین در مغز موش‌های صحرایی باعث افزایش ترشح هورمون لوتئینی گردید [۳۱]. و تزریق آنتاگونیست گالانین (گالاتاید) ترشح هورمون لوتئینی در موش‌های صحرایی را مهار کرد [۳۲].

مطالعات اخیر نشان می‌دهند که سیگنال‌های اندوکرینی کنترل‌کننده هموستازی انرژی مانند لپتین، گرلین، ارکسین و نوروپپتید Y در کنترل اعمال تولیدمثل موثراند [۲۹]. گالانین در کنترل تعادل انرژی نقش دارد، چراکه بعد از تزریق آن به هیپوتالاموس، غذا خوردن را تحریک کرده و باعث کاهش مصرف انرژی می‌شود. به علاوه مواد غذایی و هورمون‌های مختلف در تنظیم تولید گالانین در هیپوتالاموس نقش دارند [۴۰]. به عنوان مثال انسولین و لپتین بیان گالانین در هیپوتالاموس را مهار می‌کنند [۴۰]. پس احتمالاً گالانین می‌تواند به عنوان یک پپتید واسطه در کنترل اعمال تولید مثلی توسط وضعیت انرژی نقش داشته باشد [۷].

هرچند اثر گالانین بر ترشح هورمون لوتئینی و GnRH در موش صحرایی به طور گسترده بررسی شده، اما تاکنون اطلاعات کمی در زمینه نقش گالانین در تنظیم اعمال تولید مثلی در نشخوارکنندگان وجود دارد. با توجه به تناقضات مربوط به اثر گالانین در تنظیم ترشح هورمون لوتئینی و هورمون محرک فولیکولی، به عنوان نمونه بی‌اثر بودن تزریق داخل مغزی آن در میمون [۱۱]، افزایش ترشح هورمون لوتئینی در موش‌های صحرایی [۳۱] و مهار ترشح LH



شکل ۲- اثر تزریق درون رگی گالانین (۱ μg/kg BW) بر میانگین غلظت پلاسمایی FSH قبل و بعد از تزریق در حیواناتی که به مدت یک ماه تحت رژیم های ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ درصد انرژی بودند. مقادیر به صورت Mean ± SEM بیان شده اند. \* p<0.05 اختلاف معنی دار با کنترل (قبل از تزریق) مربوطه می باشد.



شکل ۱- اثر تزریق درون رگی گالانین (۱ μg/kg BW) بر میانگین غلظت پلاسمایی LH قبل و بعد از تزریق در حیواناتی که به مدت یک ماه تحت رژیم های ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ درصد انرژی بودند. مقادیر به صورت Mean ± SEM بیان شده اند. \* p<0.05 اختلاف معنی دار با کنترل (قبل از تزریق) مربوطه می باشد.

همانطور که در شکل ۲ نشان داده شده است، تزریق درون-رگی گالانین در رژیم های ۵۰٪ و ۱۰۰٪ تاثیر معناداری بر میانگین غلظت پلاسمایی هورمون محرک فولیکولی نداشت و تنها در رژیم ۱۵۰٪ انرژی باعث کاهش معنی دار میانگین غلظت پلاسمایی هورمون محرک فولیکولی شد (p<0.05).

## بحث

گالانین به دلیل اثرات متعددی که بر ترشح GnRH و یا اثر مستقیمی که در سطح هیپوفیز می گذارد، به عنوان یکی از عوامل تنظیم کننده ترشح گونادوتروپین ها، به ویژه در جوندگان، شناخته شده است [۱۵]. نتیجه این بررسی هم موثر بودن گالانین در تنظیم ترشح هورمون لوتئینی و هورمون محرک فولیکولی را تایید می کند. ولی در این مطالعه برای اولین بار تاثیر تزریق درون رگی گالانین در بزهای ماده ای که با سطوح مختلف انرژی تغذیه شده بودند بررسی شد. گالانین تنها در رژیم با سطح انرژی بالا، بر ترشح هورمون لوتئینی و هورمون محرک فولیکولی موثر بود. ولی در دو رژیم دیگر تاثیر معناداری نداشت. دلیل اصلی آن با این آزمایش مشخص نمی گردد، و نیاز به بررسی های بیشتری دارد. اما این یافته ها نشان می دهند که احتمالاً اثر گالانین بر ترشح هورمون لوتئینی و هورمون محرک فولیکولی در بزهای ماده به وضعیت متابولیک و انرژی بستگی دارد. احتمالاً افزایش انرژی، حساسیت ترشح هورمون لوتئینی و هورمون محرک فولیکولی به

از لوله های خلا حاوی مواد ضد انعقاد از سیاهرگ و داج جمع آوری و تا زمان سانتریفیوژ در دمای ۴ درجه سانتیگراد نگهداری شدند. نمونه های خونی به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شده و پلاسمای نمونه های خونی جدا شده در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری شدند.

غلظت پلاسمایی هورمون لوتئینی و هورمون محرک فولیکولی با استفاده از روش رادیوایمیونواسی (RIA) و با استفاده از آنتی ژن های LH و FSH (Follicle Stimulating Hormone) گوسفندی اندازه گیری شد. اینتراسی و اینتراسی LH به ترتیب ۴٪ و ۶٪ و اینتراسی و اینتراسی FSH به ترتیب ۶٪ و ۹٪ بود. کلیه داده ها برای مقایسه میانگین غلظت پلاسمایی هورمون لوتئینی و هورمون محرک فولیکولی قبل و بعد از تزریق گالانین با کمک نرم افزار آماری SPSS (نسخه ۱۱.۵) و با استفاده از آزمون آماری T تست جفت شده مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. داده ها به صورت Mean ± SEM بیان شده اند و مقادیر p<0.05 معنی دار تلقی گردید.

## یافته ها

باتوجه به شکل ۱، تزریق درون رگی گالانین تنها در رژیم ۱۵۰٪ انرژی باعث کاهش معنی دار میانگین غلظت پلاسمایی هورمون لوتئینی شد (p<0.05) و در دو گروه دیگر تاثیر معناداری نداشت.

افزایش ترشح هورمون لوتئینی و هورمون محرک فولیکولی شده باشد. در واقع می توان پیشنهاد کرد که گالانین در غلظت های زیاد، اثر مهاری دارد و در غلظت های متوسط و کم بدون اثر می باشد.

مکانیسم دیگری که شاید بتواند بخشی از این اثر مهاری را توضیح دهد از طریق اپیات ها می باشد. فیبرهای گالانین بانورون های پروپوملانوکورتین (POMC) در هسته قوسی (Arcuate Nucleus (Arc) ارتباط سیناپسی دارند [۲۰] و GALR1 و GALR2 (Galanin Receptor 2) در این نورون ها بیان می شوند [۵]. اکثر نورون های POMC بیان کننده این گیرنده ها، به هسته پره اپتیک که یکی از مراکز مهم کنترل تولید مثل می باشد هدایت می شوند [۱۹] و  $\beta$  اندورفین یکی از فرآورده های نورون های POMC می باشد که باعث مهار ترشح هورمون لوتئینی و هورمون محرک فولیکولی می شود [۱۴]. اثر گالانین بر  $\beta$  اندورفین به خوبی مشخص نشده و این اثر به نوع گیرنده فعال شده و واکنش های داخل سلولی که در نتیجه فعال شدن گیرنده ایجاد می شود بستگی دارد [۴]. تاکنون سه نوع گیرنده جفت شده با G پروتئین برای گالانین شناسایی شده و فعال شدن این گیرنده ها باعث واکنش های داخل سلولی متعددی می شود [۶]. پس ممکن است گالانین در یک سلول هدف هم اثر تحریکی و هم مهاری داشته باشد [۴]. اما برخی پیشنهاد می کنند که ممکن است گالانین ترشح  $\beta$  اندورفین را تحریک کند [۲۱]. بنابراین برخی از اثرات کاهشی گالانین می تواند از طریق  $\beta$  اندورفین وساطت شود.

در رژیم ۱۰٪ انرژی، تزریق گالانین تاثیر معناداری بر میانگین غلظت هورمون لوتئینی و هورمون محرک فولیکولی نداشت. اما تزریق درون رگی گالانین در موش های صحرایی ماده باعث افزایش هورمون لوتئینی شده بود [۳۶]. این تفاوت می تواند ناشی از تفاوت گونه ای در عمل گالانین [۱۱] و تفاوت در روش آزمایش باشد. مشخص شده که برخی از پپتیدها اثراتشان وابسته به گونه می باشد. به عنوان مثال NPY در موش صحرایی باعث تحریک ترشح هورمون لوتئینی [۱۳] و در گوسفند باعث مهار ترشح هورمون لوتئینی می شود [۲۶]. همچنین گالانین با وجود تحریک ترشح هورمون رشد در موش های صحرایی، اثری بر ترشح آن درخوک ها نداشت [۱۱]. از طرفی تزریق گالانین به تنهایی اثری بر ترشح هورمون لوتئینی در موش های صحرایی

گالانین را تغییر می دهد که این امر باعث کاهش هورمون لوتئینی و هورمون محرک فولیکولی در رژیم هایی با سطح انرژی بالا و بدون تغییر ماندن آن در دو رژیم دیگر می شود. اثر دوگانه گالانین می تواند وابسته به گیرنده های آن در محور هیپوتالاموس-هیپوفیزی باشد. از آنجا که گیرنده شماره ۱ گالانین (GALR1) در تنظیم غذا خوردن و متابولیسم نقش دارد [۲۵] و فعال شدن این گیرنده باعث هیپرپالاریزاسیون می شود [۶] می توان چنین پیشنهاد کرد که در رژیم با سطح انرژی بالا بیان این گیرنده غالب شده و در نتیجه منجر به کاهش هورمون لوتئینی و هورمون محرک فولیکولی می شود. اثر کاهشی گالانین می تواند بدلیل وجود گیرنده گالانین در برجستگی میانی باشد که بصورت پیش سیناپسی ترشح GnRH و در نتیجه هورمون لوتئینی و هورمون محرک فولیکولی را مهار می کند. مشابه چنین مکانیسمی در مورد مهار ترشح استیل کولین با گالانین بیان شده است [۱۶،۹].

تزریق داخل رگی گالانین در موش صحرایی باعث کاهش معنادار غلظت پلاسمایی لپتین می شود [۲۳] و گالانین به عنوان عامل کاهش دهنده انسولین شناخته شده است [۲۷] هر دو این هورمون ها در تنظیم ترشح گونادوتروپین ها دخالت دارند [۳، ۱۷، ۴۱]. شاید بتوان بخشی از اثرات گالانین را از این طریق توجیه کرد اما دلیل اینکه این اثر فقط در رژیم ۱۵٪ انرژی مشاهده شد مشخص نیست.

تاکنون بررسی در زمینه اثر گالانین بر هورمون لوتئینی و هورمون محرک فولیکولی در رژیم های غذایی مختلف (حتی در موش های صحرایی) انجام نشده. اما در آزمایشی تزریق NPY (Neuropeptide Y) در موش های صحرایی که بیضه آنها خارج نشده بود، تنها در موش های صحرایی که ۵۰٪ غذای روزانه را دریافت می کردند اثر تحریکی بر هورمون لوتئینی داشت [۳۵]. از طرفی نورون های گالانین ویژگی های متفاوتی نسبت به سایر پپتیدهای آرکسیژنیک مانند NPY دارند [۲۲]. برخلاف NPY که بیان آن در محدودیت انرژی افزایش می یابد [۲۶]، بیان گالانین در محدودیت انرژی در گوسفند تغییری نمی کند [۷]. اما رژیم های با چربی زیاد باعث افزایش بیان گالانین در هیپوتالاموس می شوند [۴۰] و تعداد نورون های گالانین در موش هایی که بیش از حد غذا می خورند افزایش می یابد [۳۰]. ما در این آزمایش بیان گالانین را بررسی نکردیم. می توان پیشنهاد کرد که افزایش بیان گالانین در رژیم ۱۵٪ به

تاثیر دارد. چراکه مشخص شده سن یکی از عواملی است که می‌تواند اثر گالانین را تحت تاثیر بگذارد [۲]. بنابراین به طور کلی می‌توان نتیجه گرفت احتمالاً اثر گالانین بر ترشح هورمون لوتئینی و هورمون محرک فولیکولی در بزهای ماده به وضعیت انرژی بستگی دارد و بعد از دریافت انرژی بالا، گالانین بر ترشح هورمون لوتئینی و هورمون محرک فولیکولی موثر می‌باشد. به عبارت دیگر گالانین به عنوان تنظیم‌کننده ترشح هورمون لوتئینی و هورمون محرک فولیکولی در شرایط نرمال در بزهای ماده بالغ نمی‌باشد.

### سیاسگزاری

از همکاری مرکز تحقیقات و جهاد کشاورزی استان یزد که در تامین حیوانات و وسایل آزمایشگاهی کمک کردند کمال تشکر و قدردانی را داریم.

ماده نداشت و تنها زمانی که گالانین با GnRH همزمان تزریق شدند اثر تحریکی مشاهده شد. همچنین مشخص شد که این اثر گالانین وابسته به استروئیدهای تخمدانی می‌باشد چرا که اثر تحریکی گالانین در موش‌های صحرایی اووارکتومی (OVX) Ovariectomized مشاهده نشد [۳۶].

در مطالعاتی هم که در زنان و مردان انجام شده بود، با وجود ارتباط سیناپسی نورون‌های گالانین با نورون‌های GnRH [۲۵]، تزریق درون‌رگی گالانین تاثیری بر ترشح هورمون لوتئینی نداشت [۱، ۱۸].

در مطالعه‌ای *in vitro* گالانین باعث افزایش ترشح هورمون لوتئینی از هیپوفیز گوساله‌های نر نابالغ شد [۲]. اما در این مطالعه در رژیم نرمال، گالانین تاثیر معناداری بر میانگین غلظت هورمون لوتئینی نداشت. این تفاوت می‌تواند به این دلیل باشد که احتمالاً در نشخوارکنندگان، گالانین در دوران قبل از بلوغ

## References

- [1] Arvat E, Gianotti L, Ramunni J, Grottoli S, Brossa PC, Bertagna A, Camanni F, Ghigo E, Effect of galanin on basal and stimulated secretion of prolactin, gonadotropins, thyrotropin, adrenocorticotropin and cortisol in humans. *Eur J Endocrinol* 133 (1995) 300–304.
- [2] Baratta M, Saleri R, Mascadri C, Coy D H, Negro-Vilar A, Tamanini C, Giustina A, Modulation by Galanin of Growth Hormone and Gonadotropin Secretion from Perfused Pituitary and Median Eminence of Prepubertal Male Calves. *Neuroendocrinology* 66 (1997) 271-277.
- [3] Blache D, Chagas L M, Blackberry M A, Vercoe P E, Martin G B, Metabolic factors affecting the reproductive axis in male sheep. *J Reprod Fertil* 120 (2000) 1-11.
- [4] Bouret S, Croix D, Mariot M, Loyens A, Prevot V, Jegou S, Vaudry H, Beauvillain J C, Mitchell V, Galanin modulates the activity of proopiomelanocortin neurons in the isolated mediobasal hypothalamus of the male rat. *Neuroscience* 112 (2002) 475-85.
- [5] Bouret S, Prevot V, Croix D, Howard A, Habert-Ortoli E, Jegou S, Vaudry H, Beauvillain J C, Mitchell V, Expression of GalR1 and GalR2 galanin receptor messenger ribonucleic acid in proopiomelanocortin neurons of the rat arcuate nucleus: effect of testosterone. *Endocrinol* 141 (2000) 1780-1794.
- [6] Branchek T A, Smith K E, Gerald C, Walker M W, Galanin receptor subtypes. *Trends pharmacol sci* 21 (2000) 109-117.
- [7] Chaillou E, Baumont R, Fellmann D, Tramus G, Tillet Y, Sensitivity of galanin and melanin-concentrating hormone-containing neurones to nutritional status: An immunohistochemical study in the ovariectomized ewe. *neuroendocrinol* 15 (2003) 459-467.
- [8] Chaillou E, Tramu G, Tillet Y, Distribution of galanin immunoreactivity in the sheep diencephalon. *J Chem Neuroanat* 17 (1999) 129-146.
- [9] Consolo S, Bertorelli R, Girotti P, Laporta C, Bartfai T, Parenti M, Zambelli M, Pertussis toxin- sensitive G-protein mediates galanin's inhibition of scopolamine-evoked acetylcholin release in vivo and carbachol-stimulated phosphoinositide turnover in rat ventral hippocampus. *Neurosci Lett* 126 (1991) 29-32.
- [10] Dufourny L, Skinner D C, Distribution of galanin receptor 1-immunoreactive neurons in the ovine hypothalamus: Colocalization with GnRH. *Brain Res* 1054 (2005) 73–81.
- [11] Elsaesser F, Stimulation of Porcine Pituitary Luteinizing Hormone Release by Galanin: Putative Auto/Paracrine Regulation. *Neuroendocrinol* 74 (2001) 288-99.
- [12] Enslinger M E, Parker R O, *sheep and goats*. New Jersey: Prentice Hall, 1989.
- [13] Evans J J, Modulation of Gonadotropin Levels by Peptides Acting at the Anterior Pituitary Gland. *Endocr Rev* 20 (1999) 46-67.
- [14] Faletti A G, Mastronardi C A, Lomniczi A, Seilicovich A, Gimeno M, McCann S M, Rettori V,  $\beta$ -Endorphin blocks luteinizing hormone-releasing hormone release by inhibiting the nitric oxide pathway controlling its release. *Proc Natl Acad Sci USA* 96 (1999) 1722-1726.
- [15] Finn P D, Pau F, Spies H G, Cunningham M J, Clifton D K, Steiner R A, Galanin's Functional Significance in the Regulation of the Neuroendocrine Reproductive Axis of the Monkey. *Neuroendocrinol* 71 (2000) 16-26.
- [16] Fisone G, Wu C F, Consolo S, Nordstrom O, Brynne N, Bartfai T, Melander T, Hokfelt T, Galanin inhibits acetylcholin release in the ventral hippocampus of the rat: histochemical, autoradiographic, in vivo and in vitro studies. *Proc Natl Acad Sci USA* 84 (1987) 7339-7343.
- [17] Gamba M, Pralong F P, Control of GnRH neuronal activity by metabolic factors: The role of leptin and insulin. *Mol Cell Endocrinol* 254-255 (2006) 133-139.
- [18] Giustina A, Licini M, Schettino M, Doga M, Pizzocolo G, Negro-Vial A, Physiological role of galanin in the regulation of anterior pituitary function in humans. *Am J Physiol* 266 (1994) 57–61.
- [19] Gundlach A L, Galanin/GALP and galanin receptors: role in central control of feeding, body weight/obesity and reproduction?. *European J Pharmacol* 440 (2002) 255–268.
- [20] Horvath T L, Kalra S P, Naftolin F, Leranth C, Morphological evidence for a galanin– opiate interaction in the rat mediobasal hypothalamus. *J Neuroendocrinol* 7 (1995) 579–588.
- [21] Kalra S P, Dube M G, Pu S, Xu B, Horvath T L, Kalra P S, Interacting appetite-regulating pathways in the hypothalamic regulation of body weight. *Endocr Rev* 20 (1999) 68-100.

- [22] Leibowitz S F, Wortley K E, Hypothalamic control of energy balance: different peptides, different functions. *Peptides* 25 (2004) 473–504.
- [23] Li RY, Song HD, Shi WJ, Hu SM, Yang YS, Tang JF, Chen MD, Chen JL, Galanin inhibits leptin expression and secretion in rat adipose tissue and 3T3-L1 adipocytes. *J Mol Endocrinol* 33 (2004) 11-19.
- [24] Mcmanus C J, Fitzgerald B P. Effects of a single day of feed restriction on changes in serum leptin, gonadotropins, prolactin, and metabolites in aged and young mares. *Domest Anim Endocrinol* 19 (2000) 1–13.
- [25] Mechenthaler I, Galanin and the neuroendocrine axes. *Cell Mol Life Sci* 65 (2008) 1826 – 1835.
- [26] Morrison C D, Daniel J A, Hampton J H, Buff P R, McShane T M, Thomas M G, Keisler D H, Luteinizing hormone and growth hormone secretion in ewes infused intracerebroventricularly with neuropeptide Y. *Domest Anim Endocrinol* 24 (2003) 69–80.
- [27] Olkowitz M, Ruczynski J, Cybal M, Konstanski Z, Petruszewicz J, Kaminska B, Rekowski P, New galanin(1-15) analogues modified in positions 9, 10 and 11 act as galanin antagonists on glucose-induced insulin secretion. *J Physiol Pharmacol* 58 (2007) 859-872.
- [28] Parker SL, Kalra SP, Crowley WR, Neuropeptide Y modulates the binding of a gonadotropin-releasing hormone (GnRH) analog to anterior pituitary GnRH receptor sites. *Endocrinol* 128 (1991) 2309–2316.
- [29] Pinilla L, Fernández-Fernández R, Vigo E, Navarro V M, Roa J, Castellano J M, Pineda R, Tena-Sempere M, Aguilar E, Stimulatory effect of PYY-(3–36) on gonadotropin secretion is potentiated in fasted rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 290 (2006) 1162–1171.
- [30] Plagemann A, Harder T, Rake A, Melchior K, Rohde W, Dörner G, Increased number of galanin-neurons in the paraventricular hypothalamic nucleus of neonatally overfed weanling rats. *Brain Res* 818 (1999) 160-163.
- [31] Sahu A, Crowley W R, Tatemoto K, Balasubramaniam A, Kalra S P, Effects of neuropeptide Y, NPY analog (norleucine-NPY), galanin and neuropeptide K on LH release in ovariectomized (ovx) and ovx estrogen, progesterone-treated rats. *Peptides* 8 (1987) 921-926.
- [32] Sahu A, Xu B, Kalra S P, Role of galanin in stimulation of pituitary luteinizing hormone secretion as revealed by a specific receptor antagonist, galantide. *Endocrinol* 134 (1994) 529-536.
- [33] Saleri R, Baratta M, Renaville R, Portetelle D, Coy D H, Giustina A, Tamanini C, Effects of galanin infusion on GH secretion and GHRH-induced GH release in prepubertal male lambs. *Small Rumin Res* 33 (1999) 231-237.
- [34] Scheffen J R, Splett C L, Desotelle J A, Bauer-Dantoin A C, Testosterone-Dependent Effects of Galanin on Pituitary Luteinizing Hormone Secretion in Male Rats. *Biol Reprod* 68 (2003) 363–369.
- [35] Schmidt J R, Piacsek B E, Effect of reduced caloric intake on the sensitivity on luteinizing hormone (LH) release to neuropeptide-Y(NPY) in female rats. *Abstracts of 32<sup>nd</sup> annual meeting of the Society for the Study of Reproduction* 1999 Jul.29- Aug. 3, Washington , USA.
- [36] Splett C L, Scheffen J R, Desotelle J A, Plamann V, Bauer-Dantoin A C, Galanin Enhancement of Gonadotropin-Releasing Hormone-Stimulated Luteinizing Hormone Secretion in Female Rats Is Estrogen Dependent . *Endocrinol* 144 (2003) 484-490.
- [37] Tatemoto K, Rokaeus A, Hornvall J, McDonald TJ, Mutt V, Galanin—a novel biologically active peptide from porcine intestine. *FEBS Lett* 164 (1983) 124–128.
- [38] Todd J F, Small C J, Akinsanya K O, Stanley S A , Smith D M, Bloom S R, Galanin Is a Paracrine Inhibitor of Gonadotroph Function in the Female Rat. *Endocrinol* 139 (1998) 4222–4229.
- [39] Todd J F, Small C J, Bloom S R, The effect of galanin on the gonadotroph-derived  $\alpha$ T3–1 cell line, *Abstracts of 16th Joint Meeting of the British Endocrine Societies* 1997 Apr .7-10, Harrogate, UK.
- [40] Wang J, Akabayashi A, Yu H J, Dourmashkin J, Alexander J T, Silva I, Lighter J, Leibowitz S F, Hypothalamic galanin: control by signals of fat metabolism. *Brain Res* 804 (1998) 7–20.
- [41] Weiss J M, Polack S, Diedrich K, Ortmann O, Effects of insulin on luteinizing hormone and prolactin secretion and calcium signaling in female rat pituitary cells. *Arch Gynecol Obstet* 269 (2003) 45-50.