Archive of SID

IranJPP
Iranian Journal of
Physiology and Pharmacology

مجله فیزیولوژی و فارماکولوژی ایران

سال ۱۳۹۸ ، دوره ۳، شماره ۳، پیاپی ۱۱، صفحه ۲۲۳-۲۱۴

Downloaded from ijpp.phypha.ir at 10:16 +0330 on Saturday March 13th 2021

مقاله پژوهشی

نقش میانجیگری نوروپپتید FF در هیپوفاژی القایی توسط سیستم ملانوکورتینی در جوجه های نوزاد نژاد گوشتی

یاسمن موسی‌دوست، مرتضی زنده‌دل*، مینا خدادادی

گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران، ایران

دریافت: ۴ اردیبهشت ۱۳۹۹ پذیرش: ۹ خرداد ۱۳۹۹

چکیده

زمینه و هدف: پپتید وابسته به آرژنین–فنیل آلانین–آمید۳– انسانی پپتیدی متعلق به خانواده پپتیدهای آر اف آمیده (آرژنین–فنیل آلانین) است که پیشتر نقش آن در تنظیم اشتهای پستانداران بواسطه تحریک گیرنده‌های نوروپپتید اف اف به اثبات رسیده است. مطالعه حاضر به بررسی اثرات گیرنده NPFF بر تنظیم اخذ غذا و ارتباط آن با سیستم ملانوکورتینی در جوجه‌های نوزاد می‌پردازد.

روش‌ها: تعداد ۲۲۰ جوجه نر نوزاد نژاد گوشتی (راس ۳۰۸) در ۵ آزمون، و هر آزمون در چهار گروه شامل یک گروه کنترل و سه گروه تیمار دسته‌بندی شدند (۱۱جوجه در هر گروه). میزان اخذ غذای تجمعی در جوجه‌های ۵ روزه در زمان‌های ۳۰، ۶۰ و ۱۲۰ دقیقه بعد از تزریق داخل بطنی مغزی داروها اندازه‌گیری و تجزیه و تحلیل شد.

یافته‌ها: آگونیست گیرنده MC3R (γ1-MSH) ۵ و۱۰ پیکومول و آگونیست گیرنده MC4R (PG-931) ۲۵ و۵۰ پیکومول اخذ غذا را نسبت به گروه کنترل در همه زمان‌های آزمایش کاهش دادند ($p < ۰/۰۵$). درحالیکه تزریق ۸ و ۱۶ نانومول آنتاگونیست گیرنده NPFF (RF9)، سبب افزایش اخذ غذا نسبت به گروه کنترل در هر سه زمان آزمایش شد ($p < ۰/۰۵$). تزریق همزمان RF9 و γ1-MSH تغییر معنی‌داری بر هیپوفاژی القایی توسط γ1-MSH نداشت ($p \geq ۰/۰۵$). در حالیکه تزریق RF9 به همراه PG-931 هیپوفاژی القایی توسط PG-931 را به‌طور معنی‌داری در همه زمان‌های آزمایش تخفیف داد ($p < ۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج احتمالاً اثرات هیپوفاژیک MC4R بر اخذ غذا در جوجه‌های نوزاد نژاد گوشتی از طریق گیرنده‌های NPFF میانجی‌گری می‌شود.

واژه‌های کلیدی: اخذ غذا، جوجه، تزریق داخل بطنی مغزی، ملانوکورتین، نوروپپتیدFF

مقدمه

به طور کلی تنظیم میزان مصرف غذا در پرندگان بوسیله مکانیسم های هومئوستاتیک پیچیده و در سطوح کنترلی مختلف اجرا می‌شود و در این راستا عوامل مختلفی نظیر عوامل خارجی (از جمله شرایط محیطی و رژیم غذایی) و داخلی مانند عوامل گوارشی، هورمونی و متابولیکی دخیل هستند [۱]. کنترل اشتها در سیستم اعصاب مرکزی توسط میانجی‌ها و مدارهای عصبی انجام می‌گیرد و در مغز پرندگان و پستانداران پپتیدهای متنوعی در تنظیم اخذ غذا و کنترل وزن بدن مؤثر هستند که این نوروپپتیدها در نواحی مختلفی از مغز حضور داشته و با اتصال به گیرنده‌های اختصاصی خود و یا با اثر بر آزادسازی سایر میانجی‌های عصبی در کنترل اشتها نقش دارند. تا به امروز ۵ گروه از پپتیدهای خانواده آر–اف–آمیده[1] شناخته شده‌اند. پپتیدهای متعلق به این خانواده همگی به توالی آرژینین–فنیل آلانین در انتهای کربوکسیل ختم می‌شوند و شامل ۱– گروه نوروپپتید اف اف[2] ۲– گروه پپتید آزادکننده پرولاکتین۳– گروه ال پی ایکس آر–اف– آمیده[3] ۴– گروه

[1] RFamide peptide
[2] Neuropeptide FF
[3] LPXRFamides (RFRPs)

* نویسندهٔ مسئول مکاتبات: zendedel@ut.ac.ir (ORCID ID: 0000-0001-8252-9423)

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from ijpp.phypha.ir at 10:16 +0330 on Saturday March 13th 2021

کیس‌پپتین[4] و ۵- پروگلوتامیلیتد آر-اف-آمیده پپتید[5] هستند که همگی آن‌ها دارای اعمال فیزیولوژیک متعددی در مغز پستانداران می باشند. از جمله مهمترین این وظایف، نقش آن‌ها در بلوغ، تولیدمثل و عملکرد تنظیمی آن‌ها در رفتارهای تغذیه‌ای می باشد [۲]. برخی از این نوروپپتیدها اثرات ارکسیژنیک و برخی دیگر اثرات آنورکسیژنیک دارند که در این میان دو پپتید به نام های آر اف آر پی-۱ (RFRP-1) و آر اف آر پی۳- (آرژنین-فنیل آلانین-آمید۳- انسانی؛ RFRP-3)[6] هستند که به ترتیب نوروپپتید اس اف[7] (NPSF) و نوروپپتید وی اف[8](NPVF) نیز نامیده می شوند. مطالعات مختلف نشان داده اند که این پپتیدها در انسان، گاو، موش سوری (فقط RFRP- 3)، موش صحرائی، همستر و گوسفند توسط ژن NPVF کد می‌شوند. همچنین مطالعات نشان داده‌اند که RFRP-3 ارتولوگ هورمون مهارکننده گونادوتروپین (GnIH) در پستانداران می‌باشد [۳]. اثرات بی‌اشتهایی کوتاه مدت ناشی از تزریق NPVF در پرندگان اخیراً مورد بررسی قرارگرفته است و نتایج حاصل از آن نشان‌دهنده همبستگی این اثرات با تغییرات رفتاری برخاسته از هسته های هیپوتالاموسی در مغز جوجه می‌باشد [۴].

یکی از سیستم های نوروترانسمیتری مغز که نقش مؤثری در کنترل اشتها دارد، سیستم ملانوکورتینی است. تاکنون ۵ نوع گیرنده ملانوکورتینی (MC1R-MC5R) شناسایی شده‌اند که در فرآیندهای مغزی از جمله تنظیم تعادل انرژی، تنظیم حرارت بدن و یادگیری نقش دارند. اما در این میان تنها MC3R و MC4R دارای نقش تنظیمی برجسته در ارتباط با کنترل اشتها در پستانداران و پرندگان می‌باشند. پراکندگی این دو گیرنده بیشتر در نواحی هیپوتالاموسی (در محل هسته‌های کمانی، شکمی میانی و پاراونتریکولار هیپوتالاموس که از مهمترین مراکز تنظیم اخذ غذا در پستانداران و پرندگان هستند) است.

مطالعاتی که بر روی کنترل اخذ غذای ناشی از تزریق داخل بطن مغزی آگونیست MC3R و MC4R در پستانداران انجام شده، کاهش اخذ غذا بواسطه تحریک این گیرنده ها را نشان می‌دهد [۵]. همچنین تزریق داخل بطنی مغزی آنتاگونیست همین گیرنده‌ها اخذ غذا را در جوجه‌های نوزاد گوشتی افزایش داده است [۶].

در مطالعه‌ای که اخیراً بر روی RFRP-3 انجام گرفته است، نشان داده شد که این نوروپپتید احتمالاً بواسطه بازکردن کانال‌های پتاسیمی سبب مهار نورون های پیش اپیوملانوکورتینی[9] (POMC) و معکوس کردن اثرات کیس پپتین در موش شده است [۷]، بنابراین احتمال وجود تداخل تنظیمی در ارتباط با اثر RFRP-3 و سیستم ملانوکورتینی در ناحیه هیپوتالاموس وجود دارد. با توجه به مطالب فوق و اثبات حضور RFRP-3 در نواحی دخیل در کنترل اخذ غذا در پرندگان و همچنین ارتباط بین سیستم ملانوکورتینی در نواحی مختلف مغز در تنظیم رفتارهای فیزیولوژیک، هدف از انجام این مطالعه بررسی اثرات گیرنده NPFF بر اخذ غذای تجمعی در جوجه‌ها و همچنین بررسی ارتباط آن با سیستم ملانوکورتینی در جوجه‌های نوزاد نژاد گوشتی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

حیوانات

این مطالعه بر روی ۲۲۰ قطعه جوجه گوشتی نر یک روزه نژاد راس ۳۰۸ (شرکت ماهان، تهران، ایران) انجام شد. جوجه‌ها در دمای ۱ ± ۳۰ °C و رطوبت ٪ ۲ ± ۵۰ درصد و نور ۲۳ ساعت روشنایی و ۱ ساعت تاریکی با دسترسی آزاد به آب و غذا (جیره استارتر استاندارد حاوی ٪۲۱ پروتئین خام و ۲۸۵۰ کیلوکالری به ازای هر کیلوگرم انرژی قابل متابولیزه، شرکت چینه، تهران، ایران) نگهداری شدند. جنبه‌های اخلاقی کار با حیوانات با رعایت اصول راهنمای مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی (مؤسسه ملی سلامت ایالات متحده آمریکا) و همچنین مطابق با قوانین مصوب توسط انجمن حمایت از حیوانات دولت جمهوری اسلامی ایران انجام گرفته‌است. در ابتدا جوجه‌ها به‌مدت ۳ روز بصورت گروهی و سپس به‌مدت ۲روز در قفس‌های انفرادی نگهداری شدند. برای انجام آزمون‌ها جوجه‌ها همواره تا سه ساعت قبل از انجام تزریقات دسترسی آزاد به آب و غذا داشتند و اما سه ساعت قبل از انجام اولین تزریق از اخذ غذا محروم شدند ولیکن در تمام طول آزمایش به آب تازه دسترسی داشتند. کلیه مراحل نگهداری، جابجایی، تزریق و انجام آزمایش بر روی جوجه‌ها

[4] Kisspeptin
[5] Pyroglutamylated RFamide peptideQFRP
[6] Arginine-phenylalanine-amide-related peptide-3
[7] Neuropeptide SF (NPSF)
[8] Neuropeptide VF (NPVF)
[9] Pro-opiomelanocortin

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from ijpp.phypha.ir at 10:16 +0330 on Saturday March 13th 2021

مطابق با دستورالعمل مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی ایالات متحده امریکا (شماره چاپ ۸۵-۲۳، ویرایش شده در سال ۱۹۹۶)[10] و همچنین قوانین مربوط به نگهداری و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی دولت جهوری اسلامی ایران و بیانیه هلسینکی انجام شد.

داروهای مصرفی

تمامی داروهای مصرفی (سیگما-آمریکا) شامل γ1-MSH (آگونیستMC3R)، RF9[11] (آنتاگونیست گیرنده نوروپپتید FF) وPG-931 (آگونیست MC4R) در دی متیل سولفوکساید[12] حل شده و سپس با سالین ۸۵/۰٪ حاوی اوانس بلو ۰/۱ ٪ به نسبت ۱:۲۵۰ رقیق شدند. لازم به ذکر است که دی متیل سولفوکساید با غلظت مصرفی در این مطالعه دارای اثرات سمیت سلولی نمی باشد [۸]. در تمامی گروه‌های آزمایشی از سرم فیزیولوژی به همراه اوانس بلو ۱/۰ ٪ در تزریق داخل بطنی مغزی بعنوان گروه کنترل استفاده شد.

روش تزریق داخل بطنی مغزی

به منظور انجام این مطالعه، جوجه‌ها در ۵ گروه ۱۱ تایی به صورت تصادفی دسته‌بندی شدند. جهت تزریق داخل بطنی مغزی در جوجه‌ها، سر جوجه هوشیار توسط یک دستگاه اکریلیک که زاویه نوک آن ۴۵ درجه می باشد نگه داشته شد، درحالیکه سطح جمجمه موازی با سطح میز کار بود. یک سوراخ در کلیشه دستگاه تعبیه شده بود که بلافاصله بر روی جمجمه در ناحیه بطن راست قرار می‌گرفت. سپس از طریق سوراخ ایجاد شده در بطن مغز، مواد و داروهای مورد نظر با استفاده از سرنگ هامیلتون (هامیلتون- سوئیس) تزریق شدند [۹]. لازم به ذکر است که سر سوزن تنها به اندازه ۴ میلی متر در پوست و جمجمه فرو می‌رود و این پروسه در جوجه‌ها استرس فیزیولوژیکی ایجاد نمی کند [۱۰]. در پایان آزمایش، جوجه‌ها به روش پیچاندن سریع گردن، یوتانایز شده و محل تزریق مورد بررسی قرار گرفت. در این مرحله تنها داده‌های مربوط به جوجه‌هایی که رنگ آبی در بطن جانبی مغز آن ها مشهود بود مورد آنالیز قرار گرفت چراکه رنگ اوانس بلو ۰/۱ ٪ در نرمال سالین ۰/۸۵٪ بعنوان شاهد تشخیص تزریق صحیح در گروه کنترل استفاده شد و دیگر داروهای مورد استفاده یا در این ترکیب حل شده و یا توسط آن رقیق شده بودند. حجم تزریق در هر گروه ۱۰ میکرولیتر بود و در هر آزمون جوجه ها بمدت ۳ ساعت قبل از آزمایش از غذا محروم شدند (FD3)[13] و بعد از تزریق به قفس بازگردانده شده، بصورت آزاد به آب و غذا دسترسی داشتند. سپس مقدار غذای تجمعی برای هر جوجه در زمان‌های ۳۰، ۶۰ و ۱۲۰ دقیقه بعد از تزریق بر مبنای درصدی از وزن بدن اندازه‌گیری شد. تمامی فرآیندهای مذکور از ساعت ۸ صبح تا ۳:۳۰ بعدازظهر در محل آزمایشگاه اختصاصی فیزیولوژی در ساختمان جناب آقای دکتر رستگار در محل دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران انجام شد. در پایان لازم به ذکر است که اخذ غذا بعنوان درصدی از وزن بدن بیان می‌شود تا اثر تفاوت وزن بین جوجه ها بر میزان اخذ غذا به حداقل برسد.

طراحی آزمون و اندازه‌گیری اخذ غذای تجمعی

در آزمایش اول، گروه کنترل (الف) تزریق داخل بطنی مغزی محلول کنترل، در گروه (ب) ۵/۲ پیکومول γ1-MSH، گروه (ج) ۵ پیکومول γ1-MSH و در گروه (د) ۱۰پیکومول γ1-MSH انجام شد. در آزمایش دوم گروه (الف) با محلول کنترل، گروه (ب) ۵/۱۲ پیکومول PG-931، گروه (ج) ۲۵ پیکومول PG-931 و گروه (د) ۵۰ پیکومول PG-931 مورد تزریق قرارگرفتند. در آزمایش سوم گروه (الف) محلول کنترل را به صورت تزریق داخل بطنی مغزی دریافت کردند و گروه (ب) ۵/۰ نانومول RF9، گروه (ج) ۱ نانومول RF9 و گروه (د) ۲ نانومول RF9 تزریق شد. در آزمایش چهارم گروه (الف) با محلول کنترل، گروه (ب) ۵/۰ نانومول RF9، گروه (ج) ۱۰ پیکومول γ1-MSH و در گروه (د) ۵/۰ نانومول RF9 و ۱۰ پیکومول γ1-MSH همزمان تزریق شد. در آزمایش پنجم گروه (الف) با محلول کنترل، گروه (ب) ۵/۰ نانومول RF9، گروه (ج) ۵۰ پیکومول PG-931 و در گروه (د) ۵/۰ نانومول RF9 و ۵۰ پیکومول PG-931 همزمان بصورت تزریق داخل بطنی مغزی تزریق شد.

[10] Guide for the Care and Use of Laboratory Animals by the National Institutes of Health, USA (publication No. 85-23, revised 1996)
[11] Antagonist of the NPFF receptors
[12] Dimethyl sulfoxide (DMSO)
[13] Food deprived 3 hours

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from ijpp.phypha.ir at 10:16 +0330 on Saturday March 13th 2021

روش ارزیابی آماری

در این مطالعه آنالیز داده ها بوسیله نرم افزار SPSS۱۴ (نسخه ۱۶/۰۰) انجام شد. به منظور تعیین وجود اختلاف معنی‌دار میان گروه‌های آزمایشی از روش تحلیل واریانس دوطرفه و تست تعقیبی توکی استفاده شد. در تمام مقایسه‌ها سطح $p < ۰/۰۵$ به عنوان معیار اختلاف معنی دار مد نظر بود. نمودارها در نرم افزار سیگما پلات (نسخه ۱۴/۰۰) رسم شد.

یافته‌ها

اثرات گیرنده نوروپپتیدFF بر اخذ غذای تجمعی و ارتباط آن با سیستم ملانوکورتینی در جوجه‌های نوزاد مورد بررسی قرار گرفت و نتایج در نمودارهای ۱-۵ قابل مشاهده است.

در آزمون نخست متعاقب تزریق داخل بطنی مغزی ، ۵/۲ پیکومول γ1-MSH به‌عنوان آگونیست MC3R در زمان‌های ۳۰،۶۰ و ۱۲۰دقیقه پس از تزریق، هیچ تغییر معنی‌داری در اخذ غذای تجمعی در مقایسه با گروه کنترل مشاهده نشد ($p \geq ۰/۰۵$). در حالیکه بدنبال تزریق داخل بطنی مغزی دوزهای ۵ و ۱۰پیکومول از γ1-MSH، به طور معنی داری اخذ غذا در هر سه زمان آزمایش و در مقایسه با گروه کنترل کاهش یافت ($p < ۰/۰۵$ ، نمودار ۱). آنالیز واریانس دوطرفه نشان‌دهنده اثر معنی‌دار دوز [$F(۳,۴۰=۱۶۰۷/۳ , p < ۰/۰۰۱$] و زمان [$F (۲, ۸۰ = ۵۱۹۰/۲ , p < ۰/۰۰۱$] و برهمکنش معنی‌داری بین فاکتورهای نوع درمان و زمان می‌باشد [$F (۶, ۸۰ = ۵۱/۸ , p < ۰/۰۰۱$].

در آزمون دوم، تزریق PG-931 با دوز ۵/۱۲ پیکومول در همه زمان‌های آزمایش اثر معنی‌داری بر اخذ غذا در مقایسه با گروه کنترل نداشت ($p \geq ۰/۰۵$) درحالیکه در دوزهای بالاتر تزریق PG-931 (۲۵ و ۵۰ پیکومول) به‌طور معنی‌داری در هر سه دوره اخذ غذا کاهش یافت ($p < ۰/۰۵$ ، نمودار ۲).

آنالیز واریانس دوطرفه نشان‌دهنده اثر معنی‌دار دوز [$F (۳, ۴۰ = ۹۸۶/۷ , p < ۰/۰۰۱$] و زمان [$F (۲, ۸۰ = ۳۸۶۲/۸ , p < ۰/۰۰۱$] و برهمکنش معنی‌داری بین فاکتورهای نوع درمان و زمان می‌باشد [$F (۶, ۸۰ = ۴۷/۳ , p < ۰/۰۰۱$].

در آزمون سوم، تزریق داخل‌بطنی مغزی ،RF9 با دوز ۴ نانومول تأثیر معنی‌داری بر دریافت غذا در مقایسه با گروه کنترل در زمان‌های آزمایش نداشت ($p \geq ۰/۰۵$). اما متعاقب تزریق ۸ و ۱۶ نانومول RF9 به عنوان آنتاگونیست گیرنده نوروپپتیدFF اخذ غذا در دقایق ۳۰، ۶۰ و ۱۲۰ پس از تزریق بطور معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل افزایش یافت ($p <۰/۰۵$، نمودار۳).

آنالیز واریانس دوطرفه نشان‌دهنده اثر معنی‌دار دوز [$F (۳, ۴۰ = ۱۰۸۳/۰ , p < ۰/۰۰۱$] و زمان [$F (۲, ۸۰ = ۴۲۹۴/۲ , p < ۰/۰۰۱$] و و برهمکنش معنی‌داری بین فاکتورهای نوع درمان و زمان می‌باشد [$F (۶, ۸۰ = ۴۷/۱ , p < ۰/۰۰۱$].

در آزمون چهارم، پس از تزریق داخل بطنی مغزی دوز بی‌اثر RF9 (۴ نانومول) تغییر معنی‌داری در اخذ غذا در مقایسه با گروه کنترل در دوره های زمانی مختلف مشاهده نشد ($p \geq ۰/۰۵$). اما تزریق γ1-MSH با دوز ۱۰ پیکومول توانست موجب کاهش معنی‌داری در اخذ غذا در زمان های ۳۰، ۶۰ و ۱۲۰ دقیقه پس از تزریق در مقایسه با گروه کنترل شود ($p < ۰/۰۵$). تزریق همزمان RF9 و γ1-MSH تغییر معنی‌داری در کاهش اخذ غذای القایی توسط γ1-MSH ایجاد نکرد ($p \geq ۰/۰۵$، نمودار ۴).

نتایج حاصل از آزمون پنجم نشان داد که تزریق دوز بی‌اثر RF9 (۴ نانومول) سبب القای تغییرات معنی‌داری در اخذ غذای تجمعی در مقایسه با گروه کنترل در دوره‌های زمانی ۳۰، ۶۰ و ۱۲۰ دقیقه در جوجه‌ها نشده است ($p \geq ۰/۰۵$). درحالیکه تزریق PG-931 (۵۰ پیکومول) به‌طور معنی‌داری اخذ غذا را هر سه دوره زمانی در مقایسه با گروه کنترل کاهش داد ($p < ۰/۰۵$). اما نکته قابل توجه این است که تزریق همزمان RF9 و PG-931 اثر هیپوفاژی القایی توسط PG-931 را به‌صورت معنی‌داری مهار کرد ($p < ۰/۰۵$ ، نمودار ۵).

بحث

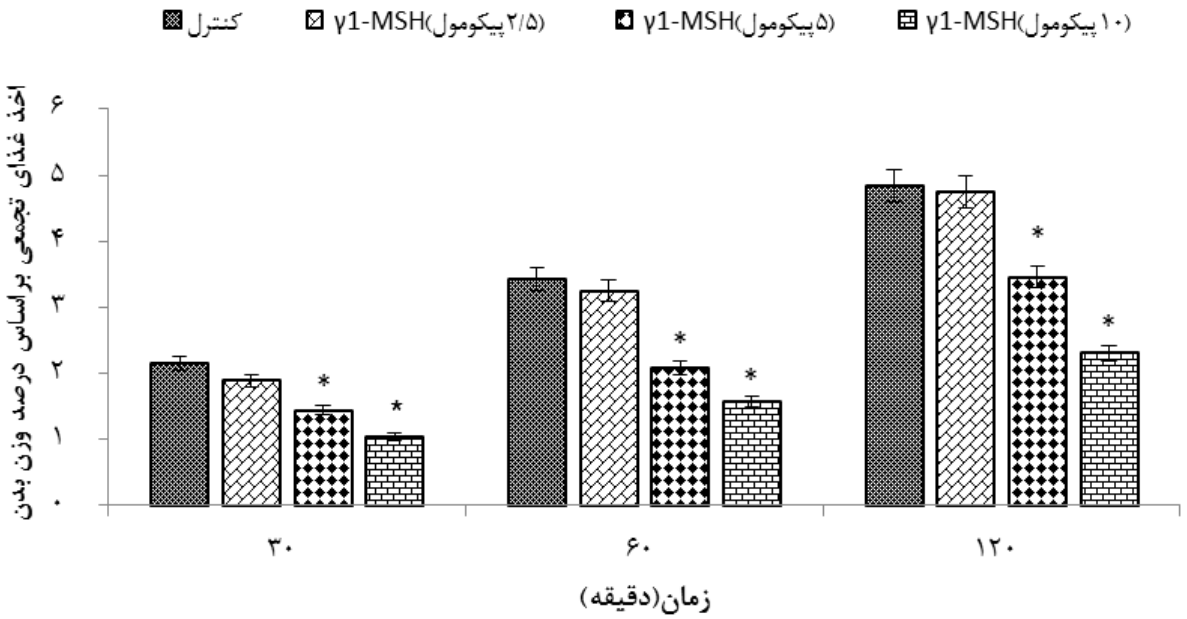
براساس یافته‌های مطالعه حاضر، تزریق داخل‌بطنی مغزی دوز مؤثر RF9 با مسدودکردن گیرنده‌های NPFF سبب افزایش اخذ غذای تجمعی در جوجه‌های نوزاد گوشتی می‌شود. مطالعات قبلی در این رابطه در پرندگان نشان داده‌اند که نورون‌های متعلق به خانواده GnIH در هسته پاراونتریکولار هیپوتالاموس قرار گرفته و فیبرهای آن‌ها تا مناطق مختلف مغز

[14]SPSS, Inc., Chicago, IL, USA

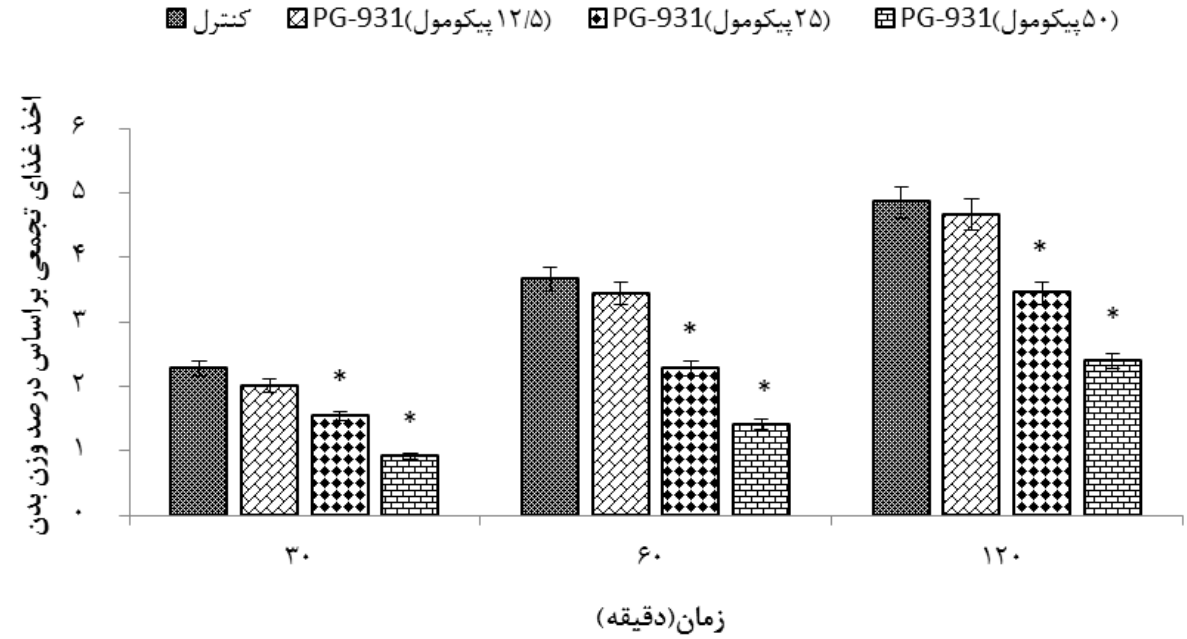
www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from ijpp.phypha.ir at 10:16 +0330 on Saturday March 13th 2021



نمودار ۱- اثر تزریق داخل بطن مغزی محلول کنترل و دوزهای مختلف γ1-MSH (۲/۵، ۵ و ۱۰ پیکومول) بر اخذ غذای تجمعی بر اساس درصد وزن بدن در جوجه‌های گوشتی. داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار است و علامت * نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل در هر زمان است ($p < ۰/۰۵$).

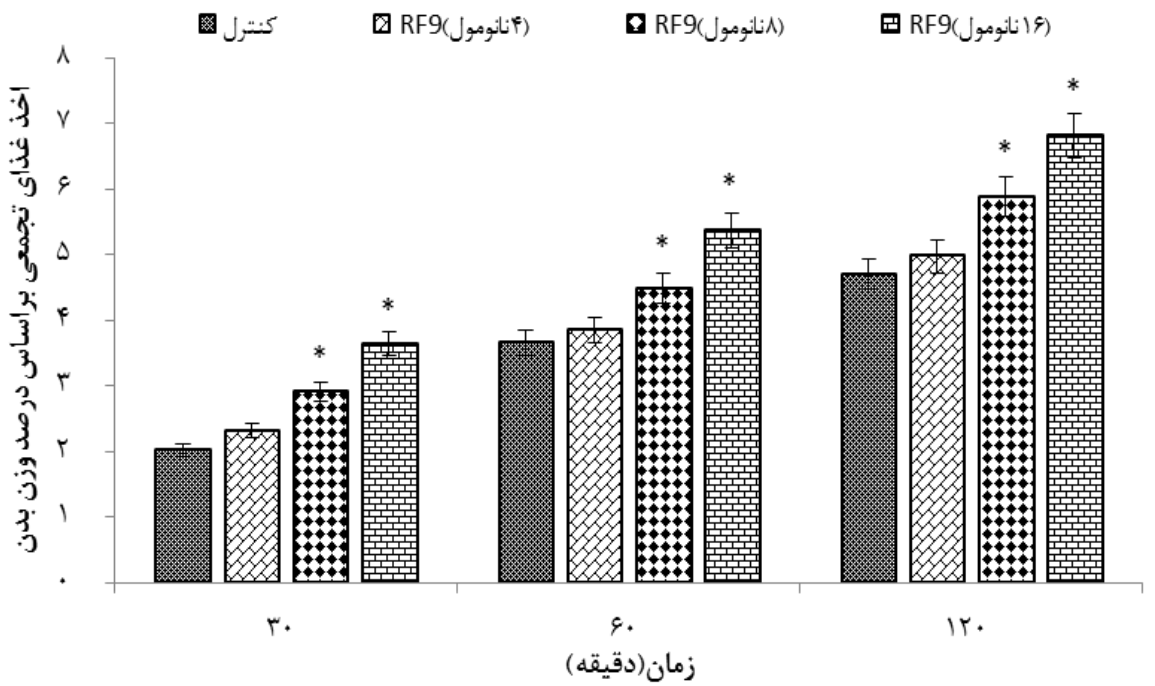


نمودار ۲- اثر تزریق داخل بطن مغزی محلول کنترل و دوزهای مختلف PG-931 (۱۲/۵، ۲۵ و ۵۰ پیکومول) بر اخذ غذای تجمعی بر اساس درصد وزن بدن در جوجه‌های گوشتی. داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار است و علامت * نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل در هر زمان است ($p < ۰/۰۵$).

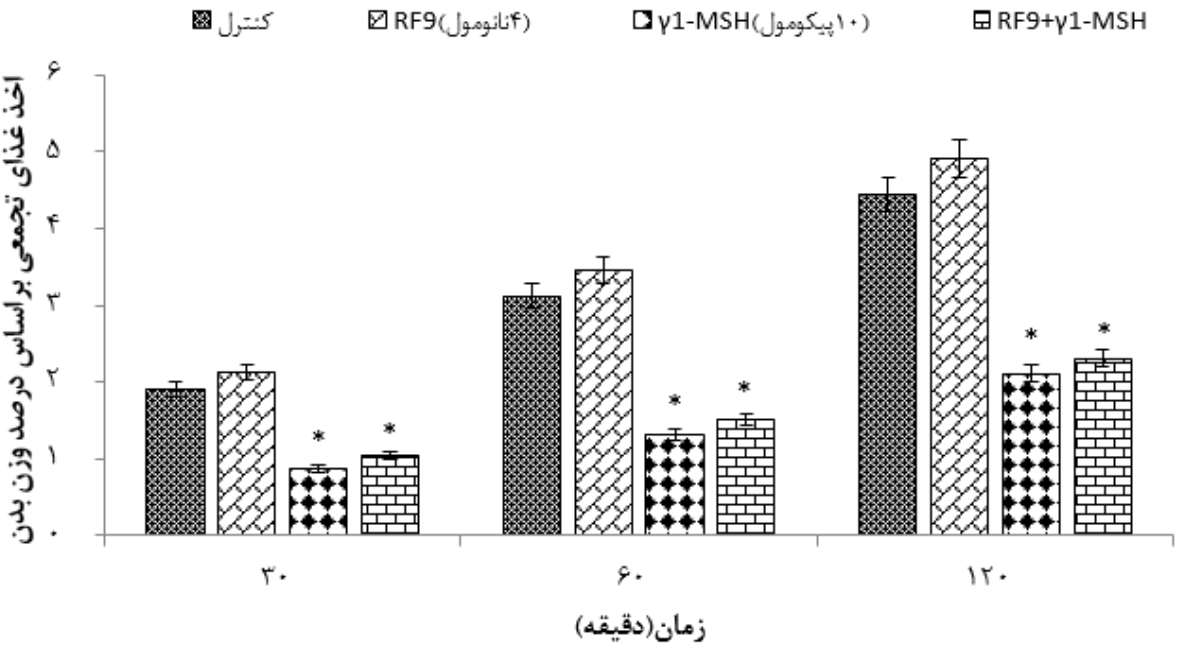
www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from ijpp.phypha.ir at 10:16 +0330 on Saturday March 13th 2021



نمودار ۳- اثر تزریق داخل بطن مغزی محلول کنترل و دوزهای مختلف RF9 (۴، ۸ و ۱۶ نانومول) بر اخذ غذای تجمعی بر اساس درصد وزن بدن در جوجه‌های گوشتی. داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار است و علامت * نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل در هر زمان است ($p < ۰/۰۵$).

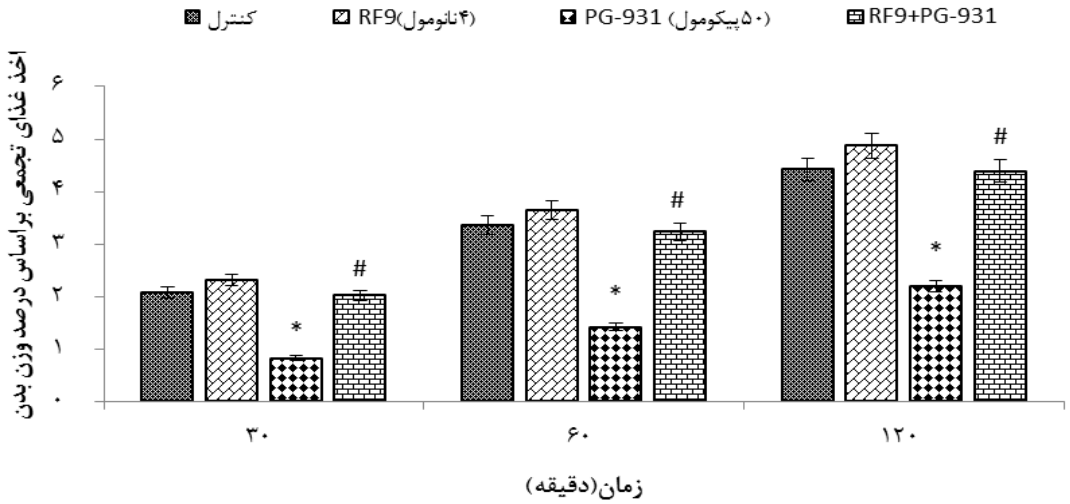


نمودار ٤- اثر تزریق داخل بطن مغزی محلول کنترل، RF9 (۴نانومول)، γ1-MSH (۱۰ پیکومول) و تزریق توام بر اخذ غذای تجمعی بر اساس درصد وزن بدن در جوجه‌های گوشتی داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار است و علامت * نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل در هر زمان است ($p < ۰/۰۵$).

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from ijpp.phypha.ir at 10:16 +0330 on Saturday March 13th 2021



نمودار ۵- اثر تزریق داخل بطن مغزی محلول کنترلRF9 (۴نانومول)، PG-931 (۵۰ پیکومول) و تزریق توأم بر اخذ غذای تجمعی بر اساس درصد وزن بدن در جوجه‌های گوشتی. داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار است و علامت * نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل در هر زمان است ($p < ۰/۰۵$) و علامت # نشان دهنده تفاوت معنی‌دار با گروه PG-931 (۵۰ پیکومول) در هر زمان است ($p < ۰/۰۵$).

از جمله برجستگی میانی[15]، پالئواستریاتوم آگمنتاتوم[16]، ناحیه سپتال[17] و ناحیه پری‌اپتیک[18] هیپوتاموس کشیده شده‌اند. بیان این نورون ها به شکل گسترده‌ای در ناحیه مزنسفال و دیانسفال مغز بلدرچین نیز گزارش شده است. از طرفی پپتیدهای مرتبط با هورمون مهارکننده گونادوتروپین[19] (RFRP-1 و RFRP-3) بالاترین تمایل را برای اتصال به گیرنده‌هایNPFF نوع ۱ مستقر در نواحی مزبور در مغز از خود نشان می‌دهند و هر دو این پپتیدها عمدتاً بواسطه اتصال به این گیرنده اثرات خود را بر تنظیم اخذ غذا در مهره داران، اعمال می‌کنند [۱۱]. بنابراین به نظر می‌رسد تزریق آنتاگونیست گیرنده NPFF در جوجه‌های گوشتی در مطالعه حاضر، با اثر بر هسته‌های موجود در ناحیه هیپوتالاموسی و بواسطه مسدود کردن این گیرنده‌ها سبب افزایش اخذ غذا تا ۱۲۰ دقیقه پس از تزریق داخل بطنی مغزی شده است. البته لازم به ذکر است که گزارشات متناقضی در ارتباط با اثرات RFRP-1 وRFRP-3 بر اخذ غذا در گونه‌های مختلف وجود دارد. بعنوان مثال در مطالعه‌ای تزریق RFRP-3 انسانی سبب تحریک اخذ غذا در موش نر شد [۱۲] این در حالیست که بر اساس پژوهشی دیگر تزریق داخل مغزی، RFRP-1 و RFRP-3 موجب تحریک بی‌اشتهایی (کوتاه مدت تا ۹۰ دقیقه پس از اخذ غذا) در جوجه‌های نژاد گوشتی شده است [۱۳، ۴]. بنابراین شاید بتوان دلیل مشاهدات متفاوت بین گونه پستانداران و پرندگان را به تفاوت موجود در ناحیه تزریق در مغز، تفاوت های ژنتیکی زمینه‌ای و همچنین احتمال فعال شدن مدارهای متفاوت عصبی دخیل در تنظیم اخذ غذا در دستگاه اعصاب مرکزی این گونه‌ها نسبت داد [۱۴].

همچنین بر اساس نتایج این مطالعه، تزریق داخل بطنی مغزی دوز مؤثر آنتاگونیست گیرنده‌های NPFF، اخذ غذا را در جوجه‌های نوزاد گوشتی کاهش داد. در همین راستا مطالعه دیگری در جوجه‌های گوشتی، اثرات تزریق داخل بطنی مغزی RFRP-3 انسانی[20] را گزارش کرده است. در این مطالعه تزریق داخل بطن مغزی این پپتید بعنوان آگونیست گیرنده‌های مزبور سبب کاهش کوتاه مدت (تا ۶۰ دقیقه) اخذ غذا شد در حالیکه اثری بر اخذ آب در جوجه‌ها نداشت [۴]. نتایج مطالعه حاضر نیز اثرات هیپوفاژیک القایی بواسطه تزریق داخل بطنی مغزی RFRP-3 انسانی را در جوجه های گوشتی تأیید کرده و پایداری این اثر هیپوفاژیک را تا ۱۲۰ دقیقه پس از تزریق به اثبات رسانده است. همچنین در مطالعه کلاین[21] و همکارانش در سال ۲۰۰۸، تزریق داخل بطنی مغزی RFRP-3 انسانی

[15] Median eminenc
[16] Paleostriatum Augmentatum
[17] Septal area
[18] Preoptic area
[19] Gonadotropin inhibitory hormone (GnIH)

[20] Amino acid sequence of human RFRP-3 is: VPNLPQRF-NH2
[21] Cline

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from ijpp.phypha.ir at 10:16 +0330 on Saturday March 13th 2021

سبب بروز بی‌اشتهایی در جوجه‌ها شد اما این اثر درمورد NPFF سبب بروز بی‌اشتهایی طولانی‌مدت شد. در ارتباط با علت مشاهدات متفاوت در مطالعات دیگر اینگونه آمده است که اثرات بی‌اشتهایی ناشی از تزریق NPFF و RFRP-3 از طریق دو زیرگروه مختلف گیرنده‌های NPFF در ناحیه هیپوتالاموس میانجی‌گری می‌شود به این معنی که بی‌اشتهایی ناشی از RFRP-3 از طریق گیرنده‌های NPFF1 و بی‌اشتهایی القایی توسط NPFF از طریق گیرنده‌های NPFF نوع ۲ تنظیم شده است و بی‌اشتهایی طولانی مدت القایی توسط NPFF احتمالاً به علت تمایل شدید این پپتید به این گیرنده نسبت به NPFF نوع ۱ باشد [۱۵] این درحالی است که اثرات هیپوفاژیک ناشی از RFRP-3 تنها از طریق گیرندهNPFF نوع ۱ میانجی گری می‌شود.

بعلاوه مطابق یافته‌های ما متعاقب تزریق همزمان PG-931 و RF9، اثرات هیپوفاژیک ناشی از PG-931 در جوجه‌های نوزاد گوشتی به‌طور معنی‌داری تضعیف شده و کاهش یافت. بنابراین به نظر می رسد اثرات بی‌اشتهایی ناشی از تحریک MC4R در جوجه‌های نوزاد از طریق گیرنده‌های NPFF میانجی‌گری می‌شود. اگرچه این نتیجه در راستای مشاهدات حاصل از مطالعات کلاین و همکارانش می‌باشد اما براساس اطلاعات نویسندگان، قبلاً هیچ گزارشی مبنی بر وجود تداخل عملکردی بین گیرنده NPFF و سیستم ملانوکورتینی بر اخذ غذا در جوجه‌ها گزارش نشده است تا بتوان نتایج آن را با مطالعه حاضر مقایسه کرد. اما در جهت تقویت یافته‌های مطالعه حال حاضر، ارتباطی بین RFRP-3 و سیستم ملانوکورتینی در ناحیه پشتی–میانی هیپوتالاموس گزارش شده است به نحوی‌که بیان پپتید RFRP-3 در روزهای کوتاه زمستانی بواسطه ترشح ملاتونین کاهش یافته و به نظر می‌رسد که RFRP-3 سیگنال‌های ملاتونین خروجی به سمت نورون‌های کیس ۱[۲۲] مستقر در ناحیه هسته کمانی را تقویت می‌کند [۱۶].

بعلاوه در مطالعه دیگری نشان داده شده است که نورون‌های RFRP-3 با دستجات نورورنی POMC و پپتید مرتبط با آگوتی[۲۳] مستقر در هسته کمانی هیپوتالاموس که از هسته‌های اصلی مرتبط با اخذ غذا در پستانداران و پرندگان می‌باشد، در ارتباط هستند [۱۸، ۱۷] و ازطرفی پیش تر نیز اثر تنظیمی MC3R و MC4R ملانوکورتینی بر اخذ غذا در پستانداران [۱۸] و پرندگان [۱۹] به اثبات رسیده است. همچنین با توجه به بررسی‌های انجام شده در زمینه شناخت مکانیسم‌های مرتبط با اثرات بی‌اشتهایی کوتاه مدت القایی توسط پپتیدهای خانواده آر اف امیده، به نظر می‌رسد که احتمال میانجی‌گری پپتیدهایی مانند هورمون محرک ملانوسیت [۲۰][۲۴] یا پپتید شبه گلوکاگون-۱[۲۵] [۱۱] بسیار قوی‌تر از مکانیسم‌های مرتبط با محور هیپوتالاموسی–هیپوفیزی–آدرنال [۲۶]و اثر آن ها بر اخذ غذا می‌باشد [۴] که می‌تواند مؤید یافته‌های حاصل از مطالعه حاضر باشد.

بنابراین به نظر می رسد گیرنده NPFF در اخذ غذای القایی توسط MC4R دارای نقش میانجی‌گری می‌باشد و ارتباط بین نورون های مرتبط با RFRP-3 و POMC [۱۷] نیز تأییدی بر وجود تداخل عملکردی بین این دو دسته نورونی گزارش شده در مطالعه حاضر می‌باشد. همچنین بر اساس مطالعات گذشته، اثر هم‌افزایی سیستم ملانوکورتینی بر اثرات هیپوفاژیک ناشی از آنتاگونیست گیرنده های NPFF (RF9) بر اخذ غذا که در مطالعه حاضر نشان داده شده است منطقی به نظر می‌رسد. هرچند شناخت مکانیسم دقیق این هم‌افزایی نیازمند مطالعات بیشتری دراین زمینه می‌باشد.

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه حاکی از آن است که در تنظیم مرکزی اخذ غذا در جوجه‌های گوشتی نوزاد بین RFRP-3 و سیستم ملانوکورتین تداخل عملکردی وجود دارد و احتمالاً اثرات هیپوفاژیک ناشی از MC4R در اخذ غذا در جوجه‌های نوزاد گوشتی از طریق گیرنده‌های NPFF میانجی‌گری می‌شود.

تشکر و قدردانی

از همکاری گروه فیزیولوژی و کمیته اخلاق دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، همکاران ارجمند آزمایشگاه مرکزی دامپزشکی (آزمایشگاه دکتر رستگار) و همچنین معاونت پژوهشی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران که حمایت‌های

[22] Kiss-1 neurons
[23] Agouti-related peptide
[24] Melanocyte-stimulating hormones
[25] Glucagon-like peptide-1 (GLP-1)
[26] The hypothalamic–pituitary–adrenal axis

www.SID.ir

Archive of SID

مالی انجام طرح را عهده‌دار شد، تشکر و قدردانی می‌شود.

تعارض در منافع

نویسندگان این مقاله تعارض در منافع ندارند.

نقش نویسندگان

ی.م: انجام آزمایش و نوشتن مقاله; م.ز: ایده پرداز و آنـالیز داده ها; م.خ: ایده پرداز و نوشتن مقاله.

فهرست منابع

[1] Sharkey KA, Darmani NA, Parker LA, Regulation of nausea and vomiting by cannabinoids and the endocannabinoid system. ***Eur J Pharmacol*** 722 (2014) 134-146.

[2] Tsutsui K, Bentley GE, Kriegsfeld LJ, Osugi T, Seong JY, Vaudry H, Discovery and evolutionary history of gonadotrophin-inhibitory hormone and kisspeptin: new key neuropeptides controlling reproduction. ***J Neuroendocrinol*** 22 (2010)716-727.

[3] Qi Y, Oldfield BJ, Clarke IJ, Projections of RFamide-related Peptide-3 neurones in the ovine hypothalamus, with special reference to regions regulating energy balance and reproduction***. J Neuroendocrinol*** 21 (2009) 690-697.

[4] Cline MA, Bowden CN, Calchary WA, Layne JE, Short-term anorexigenic effects of central neuropeptide VF are associated with hypothalamic changes in chicks. ***J Neuroendocrinol*** 20 (2008) 971-977.

[5] Strader AD, Schiöth HB, Buntin JD, The role of the melanocortin system and the melanocortin-4 receptor in ring dove (Streptopelia risoria) feeding behavior. ***Brain Res*** 960 (2003) 112-121.

[6] Ahmadi F, Zendehdel M, Babapour V, Panahi N, CRF1/CRF2 and MC3/MC4 receptors affect glutamate-induced food intake in neonatal meat-type chicken. ***Br J Poult Sci*** 21(2019) 1-10.

[7] Fu LY, van den Pol AN, Kisspeptin directly excite anorexigenic proopiomelanocortin neurons but inhibits orexigenic neuropeptide Y cells by an indirect synaptic mechanism. ***J Neurosci*** 30 (2010) 10205–10219.

[8] Qi W, Ding D, Salvi RJ, Cytotoxic effects of dimethyl sulphoxide (DMSO) on cochlear organotypic cultures. ***Hear Res*** 236 (2008) 52-60.

[9] Furuse M, Matsumoto M, Saito N, Sugahara K, Hasegava S, The central corticotropin-releasing factor and glucagon-like peptide -1 in food intake of the neonatal chick. ***EurJ Pharmacol*** 339 (1997) 211-214.

[10] Saito ES, Kaiya H, Tachibana T, Denbow DM, Kangawa K, Furuse M, Inhibitory effect of ghrelin on food intake is mediated by the corticotropin-releasing factor system in neonatal chicks. ***Regul Pept*** 125 (2005) 201-208.

[11] Tachibana T, Sato M, Oikawa D, Takahashi H, Boswell T, Furuse M, The anorexic effect of a-melanocyte-stimulating hormone is mediated by corticotrophin releasing factor in chicks. ***Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol*** 147 (2007) 173–178.

[12] Murakami M, Matsuzaki T, Iwasa T, Yasui T, Irahara M, Osugi T, Tsutsui K, Hypophysiotropic role of RFamide-related peptide-3 in the inhibition of LH secretion in female rats***. J En crinol*** 199 (2008) 105-112.

[13] Newmyer BA, Cline MA, Neuropeptide SF is associated with reduced food intake in chicks. ***Behav Brain Res*** 205 (2009) 311-314.

[14] Zendehdel M, Hassanpour S, Central regulation of feed intake in mammals and birds: a review. ***Neurotransmitter*** 1(2014) 1-7.

[15] Liu Q, Guan XM, Martin WJ, McDonald TP, Clements MK, Jiang Q, Zeng Z, Jacobson M, Williams DL Jr, Yu H, Bomford D, Figueroa D, Mallee J, Wang R, Evans J, Gould R, Austin CP, Identification and characterization of novel mammalian neuropeptide FF-like peptides that attenuate morphine-induced antinociception. ***J Biol Chem*** 276 (2001) 36961-36969.

[16] Ancel C, Bentsen AH, Se´ bert ME, Tena-Sempere M, Mikkelsen JD, Simonneaux V, Stimulatory effect of RFRP-3 on the gonadotrophic axis in the male syrian hamster: the exception proves the rule. ***Endocrinol*** 153 (2012) 1352–1363.

[17] Qi Y, Oldfield BJ, Clarke IJ, Projections of RFamide-related Peptide-3 neurones in the ovine hypothalamus, with special reference to regions regulating energy balance and reproduction. ***J Neuroendocrinol*** 21(2009) 690-697.

[18] Lu XY, Barsh GS, Akil H, Watson SJ, Interaction between α_melanocyte-stimulating hormone and corticotropin-releasing hormone in the regulation of feeding and hypothalamo-pituitary-adrenal responses. ***J Neurosci*** 23 (2003) 7863-7872.

[19] Hassanpour S, Zendehdel M, Babapour V, Charkhkar S, Endocannabinoid and nitric oxide interaction mediates food intake in neonatal chicken. ***Br Poult Sci*** 56 (2015) 443-451.

[20] Anand BK, Brobeck JR, Hypothalamic control of food intake in rats and cats. ***Yale J Biol Med*** 24 (1951) 123–146.

Downloaded from ijpp.phypha.ir at 10:16 +0330 on Saturday March 13th 2021

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from ijpp.phypha.ir at 10:16 +0330 on Saturday March 13th 2021

Research paper

Modulatory role of neuropeptide FF receptor on hypophagy through melanocortin system in neonatal meat-type chickens

Yasaman Moosadoost, Morteza Zendehdel*, Mina Khodadadi

Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran

Received: 6 June 2020 Accepted: 23 May 2020

Abstract

Background and aims: RFamide-related Peptide-3 (RFRP-3) belongs to the RFamide family which plays a key role in appetite regulation by stimulation of NPFF receptor in vertebrates. The present study aimed to investigate the effects of NPFF receptor on feeding behavior and its interaction with melanocortin systems in neonatal chickens.

Methods: Two hundred and Twenty neonatal male broiler-type (*ROSS 308*) chickens were divided randomly into 5 experimental groups. Each experiment had a control group and three treatment groups (n=11). Cumulative food intake was recorded and analyzed in five-day-old chicks, after intracerebroventricular injection at 30, 60 and 120 minutes after injection.

Results: Injection of MC3R receptor agonist (γ1-MSH; 5, 10 pmol) and MC4R receptor agonist (PG-931; 25, 50 pmol) decreased food intake ($p < 0.05$). However, injection of 8 and 16 nmol of NPFF receptor antagonist (RF9) increased food intake in neonatal chicks in all time-points ($p < 0.05$). Co-injection of RF9 and γ1-MSH showed no significant alteration on hypophagic effect induced by γ1-MSH ($p \geq 0.05$). Yet, co-injection of RF9 and PG-931attenuated the hypophagic effect of PG-931 in all time-points ($p < 0.05$).

Conclusion: The results of the present study indicate that the hypophagic effect of MC4R in neonatal male broiler-type (ROSS 308) chickens may be mediated by NPFF receptor.

Keywords: Food intake, Chicken, Intracerebroventricular injection, Melanocortin, Neuropeptide FF

Please cite this article as follows:

Moosadoost Y, Zendehdel M, Khodadadi M, Modulatory role of neuropeptide FF receptor on hypophagy through melanocortin system in neonatal meat-type chickens. ***Iran J Physiol Pharmacol*** 3 (2019) 214-223.

*Corresponding author: zendedel@ut.ac.ir (ORCID ID: 0000-0001-8252-9423)

www.SID.ir