Archive of SID

مجله تحقیقات دامپزشکی، ۱۳۸۷، دوره ۶۳، شماره ۵، ۳۳۰-۳۲۷

اثر تزریق داخل بطن مغزی مهارکننده برداشت وزیکولی گلوتامات بر مصرف دان و آب در جوجه گوشتی

علی باغبان زاده * وحید ناصح

گروه فیزیولوژی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران.

(دریافت مقاله: ۱۷ فروردین ماه ۱۳۸۷، پذیرش نهایی: ۱۹ تیر ماه ۱۳۸۷)

چکیده

گلوتامات به عنوان یکی از مهمترین میانجی‌های عصبی مغز نقش مهمی در کنترل مصرف دان دارد. در مطالعه حاضر اثر تزریق داخل بطن مغزی مهار کننده برداشت وزیکولی گلوتامات بر مصرف دان و آب در جوجه گوشتی بررسی شده است. داروی مورد استفاده آسمان آبی شیکاگو B6(CSB6)بود. پس از تزریق داخل بطن مغزی CSB6 میزان مصرف دان و آب به صورت تجمعی در دقایق ۱۵، ۳۰، ۶۰، ۱۲۰، ۱۸۰ اندازه‌گیری شد. نتایج حاصل از این بررسی نشان می‌دهد که با تزریق CSB6 میزان مصرف دان به طور معنی‌داری ($p<0/05$) افزایش یافته است و این افزایش وابسته به مقدار بوده که موثرترین مقدار ۵۰ نانومول بوده است. همچنین میزان مصرف آب نیز پس از تزریق CSB6 به طور معنی داری ($p<0/05$) افزایش پیدا کرده است و این افزایش نیز وابسته به مقدار بوده که موثرترین مقادیر ۵۰ و ۱۰۰ نانومول بود.

واژه‌های کلیدی: CSB6، داخل بطن مغزی، اخذ غذا، اخذ آب، جوجه گوشتی.

مقدمه

مطالعات انجام شده پیرامون مکانسیم‌های فیزیولوژیک تنظیم مصرف دان در پرندگان و پستانداران نشان دهنده دخالت دو دسته از عوامل می باشد یکی عوامل درگیر در سیستم اعصاب مرکزی (عوامل مرکزی) و دیگری عوامل درگیر در خارج از این سیستم (عوامل محیطی) (۷). شایان ذکر است که مکانیسم‌های محیطی به طور مستقل از سیستم اعصاب مرکزی عمل نمی‌کنند(۶). از مهمترین بررسی های که برروی مکانیسم‌های مرکزی تنظیم اشتها در پرندگان و پستانداران صورت می‌گیرد می توان به تزریق داخل بطن مغزی و تزریق درون هسته‌ای میانجی‌های عصبی و بررسی رفتار تغذیه‌ای حیوان اشاره کرد.

تا به حال در مرغ‌های گوشتی مطالعاتی بر روی نورو پپتیدها و میانجی‌های نوراپینفرین(۳،۸)، دوپامین و سرتونین(۹)، پرولاکتین، کوله سیستوکینین(۱۵)، هیستامین(۱۴)، لپتین(۵) بومبزین(۱۵) عامل آزاد کننده کورتیکوتروپین(۱۸)، گرلین، گالانین، عامل آزاد کننده هورمون رشد(۱۰،۱۱) گلوکاگن، گاسترین، نوروپپتید y(۱۲،۱۳) و اسید گاما آمینوبوتیرک(۲) صورت پذیرفته است.

اخیراً نشان داده شده است که گلوتامات بعنوان مهمترین میانجی عصبی تحریکی در کنترل مرکزی و محیطی مصرف خوراک و کنترل وزن بدن در پستانداران و کبوتر نقش دارد، بطوریکه تجویز عمومی، داخل بطن مغزی یا موضعی گلوتامات یا آگونیست‌های آن به داخل هیپوتالاموس جانبی یک پاسخ وابسته به مقدار در تحریک مصرف غذا در پستانداران ایجاد نموده است(۱۶) با این وجود تزریق عمومی و داخل هسته‌ای برخی آنتا گونیست‌های گیرنده گلوتامات به داخل هسته سجافی میانی(nucleus Median raphe) یا هسته آکومبنس(Nucleus accumbens) موجب افزایش مصرف غذا شده است(۴). این مطالعات نشان داده که رفتار تغذیه‌ای توسط چندین مدار که میانجی عصبی آنها گلوتامات است هم به طور محیطی و هم به شکل مرکزی تنظیم می‌شود. با مطالعه بر نقش تزریق داخل بطن مغزی گلوتامات، مشاهده شده که این میانجی عصبی در جوجه خروس گوشتی منجر به کاهش شدید مصرف دان شده است(۱) لذا در مطالعه حاضر اثر تزریق داخل بطن مغزی مهار کننده برداشت وزیکولی گلوتامات بر مصرف دان و آب در جوجه گوشتی بررسی شده است.

مواد وروش کار

دراین مطالعه از جوجه خروس‌های گوشتی از نژاد Ross 308 که در قفس انفرادی نگهداری شده و دان و آب به طور مداوم در اختیار آنها قرار داشت استفاده شد. شرایط محیط نگهداری جوجه‌ها شامل روشنایی پیوسته (۲۴ ساعته) و دمای ۲±۲۲ درجه سانتیگراد و رطوبت نسبی حدود ۴۰ درصد بود. جیره استارتر کرامبل با ۲۰ درصد پروتئین و ۲۹۵ کیلوکالری انرژی بود که در کل دوره آزمایش بطور آزاد در اختیار پرندگان قرار گرفت. هنگامی که جوجه‌ها در سن چهار هفتگی به وزن ۷۰۰ تا ۷۵۰ گرم رسیدند به آزمایشگاه فیزیولوژی منتقل شده و تحت عمل جراحی آسپتیک قرار گرفتند. نخست پرهای پشت و بالای سر حیوان کاملا تراشیده شد. سپس به ازای هر کیلوگرم وزن بدن ۲۵ میلی گرم ماده بیهوشی پنتوباربیتون سدیم(Mericux-France Sagattal- Rhone) از طریق روش درون وریدی تجویز شده و بلافاصله پس از بیهوشی سر پرنده در دستگاه استریوتاکس(Stoelting USA) با زاویه ۴۵ درجه تثبیت شده و با بتادین و سپس با الکل ضد عفونی شد ضمناپس از انجام برش جراحی به منظور مشخص شدن برگما(محل تلاقی استخوان‌های پیشانی و آهیانه)، سطح استخوان جمجمه تمیز شد.

*)نویسنده مسؤول: تلفن: ۶۶۴۲۷۵۱۷-۰۲۱، نمابر: ۶۶۹۳۳۲۲۲-۰۲۱

Email :abaghban@ut.ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID

جدول۱- میانگین اخذ غذای تجمعی پس از تزریق داخل بطن مغزی CSB6 در زمان‌های مختلف (دقیقه) (Mean±SEM). *نشان دهنده تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل ($p<0/05$).

زمان (دقیقه) گروه	۱۵	۳۰	۶۰	۱۲۰	۱۸۰
کنترل	۳/۰۰±/۱۰۰	۵/۵۰±۱/۷۳۲	۱۲/۲۵±۲/۳۲۸	۲۰/۳۸±۲/۶۱۱	۲۵/۰۰±۲/۸۷۴
CSB6 (۱۰۰نانومول)	۱۰/۰۰±۲/۱۹۲	۱۴/۲۲±۳/۲۰۱	۲۰/۴۴±۴/۲۳۳	۲۸/۲۲±۲/۹۵۵	۲۷/۷۳±۱/۷۷۹
CSB6 (۵۰نانومول)	۱۴/۰±۲/۶۸۲*	۲۱±۲/۷۶۹*	۲۶/۰۶±۱/۴۸۹*	۴۵/۷۱±۳/۱۷۵*	۵۴/۷۱±۲/۰۰۲*
CSB6 (۲۵نانومول)	۷/۷۸±۱/۵۰۷	۱۳/۷۸±۲/۴۴۳	۲۱/۸۹±۳/۵۹۶	۲۹/۷۸±۱/۵۷۹	۴۰/۲۲±۳/۹۸۹

جدول۲- میانگین اخذ آب تجمعی پس از تزریق داخل بطن مغزی CSB6 در زمان‌های مختلف (دقیقه) (Mean±SEM). *نشان دهنده تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل ($p<0/05$).

زمان (دقیقه) گروه	۱۵	۳۰	۶۰	۱۲۰	۱۸۰
کنترل	۵/۰۰±۰/۱۴	۱۵/۶۳±۳/۲۹۵	۳۳/۷۵±۶/۱	۵۲/۵۰±۴/۳۰۵	۵۸/۷۵±۴/۲۰۴
CSB6(۲۵نانومول)	۵/۵۶±۳/۲۴۱	۲۲±۴/۰۵۶	۳۷/۳۳±۲/۱۷۶	۶۰/۴۴±۵/۰۳۱	۶۴/۷۸±۲/۵۴۹
CSB6 (۵۰نانومول)	۲۹/۷۱±۱۱/۹۴۲*	۴۱/۴۳±۶/۴۳۲*	۵۷/۸۶±۵/۹۳۱*	۷۷/۴۳±۳/۷۴۱*	۹۰/۱۴±۷/۹۵۵*
CSB6(۱۰۰نانومول)	۵۳/۵۶±۲/۱۱*	۶۱±۵/۱۲۲*	۷۶±۹/۱۶۲*	۹۶/۸۹±۴/۲۱۲*	۱۱۲±۶/۴۲۲*

با قراردادن دستگاه در مختصات برگما، اعداد سه محور دستگاه استریوتاکس قرائت شد و سپس برای مشخص کردن محل سوراخ کردن بطن جانبی، مختصات بطن جانبی با اعداد مختصات برگما جمع جبری شد. این مختصات نسبت به نقطه برگما عبارتند از: ۶/۷ میلی متر در امتداد خط میانی به طرف قدام برگما و۰/۷ میلی متر از خط میانی به طرف جانب (جمجمه). سپس نقطه مورد نظر روی جمجمه حیوان علامت‌گذاری شده و سوراخی به قطر تقریبی ۲ میلی متر با استفاده از مته برقی دندان پزشکی (Dental Werk- Austria) با دقت زیاد در جمجمه ایجاد شد این سوراخ برای قراردادن کانول در بطن بود در ضمن برای تثبیت کانول راهنما از سه عدد پیچ در اطراف کانول استفاده شد. سپس کانول راهنما از جنس استیل زنگ نزن با شماره ۲۳ و طول ۱۶ میلی متر به میله عمودی دستگاه استریوتاکس وصل شد و تا عمق ۳/۷ میلی متر از سطح سخت شامه در داخل مغز فرو برده شد (Denbowدنبو ,۱۹۸۱) سپس اطراف کانول و روی پیچ‌ها با آکریل دندانپزشکی پرشد. برای جلوگیری از مسدود شدن کانول و نیز جلوگیری از ورود عوامل عفونی به درون بطن‌ها از یک در پوش کانول که توسط سیم ارتودنسی (American Orthodonties-USA) نمره۱۴ و به طول ۱۷ میلی متر تهیه شده بود استفاده گردید، بعد از عمل جراحی کانول‌گذاری و ریختن پنی سیلین (۱۰۰ هزار واحد بین المللی) در موضع جراحی، پوست سر با نخ بخیه شماره صفر بخیه زده شد سپس موضع را با بتادین ضد عفونی کرده و هر جوجه به قفس انفرادی خود منتقل گردید و به مدت ۵ تا ۷ روز به آنها استراحت داده شد.

این مطالعه بصورت مورد- شاهدی در چهار گروه آزمایشی یعنی یک گروه شاهد و سه گروه تیمار انجام شد در هر گروه تعداد ۹ پرنده قرار گرفت داروی مورد استفاده یک مهار کننده برداشت وزیکول سیناپسی گلوتامات بنام آبی آسمان شیکاگو (Tocris ltd UK) (CSB6) به حجم ۵ میکرولیتر و در مقادیر ۲۵ نانومول، ۵۰ نانومول و ۱۰۰ نانومول استفاده شد در ضمن از سرم فیزیولوژی استریل به عنوان گروه کنترل استفاده گردید.

برای تزریق محلول‌ها از سر سوزن شماره ۲۹ به طول ۱۷ میلی متر که توسط لوله نازک پلی اتیلن به طول ۵۰ سانتی متر به سرنگ هامیلتون ۱۰ میکرولیتری متصل شده بود استفاده گردید همچنین قبل از تزریق دردان خوری‌ها و آبخوری‌ها دان تازه و آب قرار گرفت و میزان مصرف دان و آب هر پرنده در فواصل زمانی ۱۵، ۳۰، ۶۰، ۱۲۰ و ۱۸۰ دقیقه بعد از تزریق اندازه‌گیری شد.

برای کسب اطمینان از قرارگیری صحیح کانول راهنما در بطن جانبی در پایان آزمایش‌ها مقدار ۱۰ میکرولیتر ماده رنگی بلو دومتیلن از طریق کانول به درون بطن جانبی تزریق گردید و پس از کشتن پرنده و خارج کردن مغز حیوان با تهیه مقاطع آناتومی، مواردیکه کانول راهنما در بطن جانبی مغز قرار نگرفته بود حذف گردید.

نتایج به دست آمده برای هر دوره زمانی توسط آنالیز واریانس یک طرفه توسط نرم افزار spss مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و برای تعیین جایگاه اختلاف معنی‌دار بین گروه‌ها از آزمون بونفرونی (Bonferroni) استفاده گردید. درجه معنی‌داری به میزان ($p<0/05$) در نظر گرفته شد.

نتایج

تزریق داخل بطن مغزی مهارکننده برداشت وزیکولی گلوتامات (Chicago Sky Blue 6B) (CSB6) در مقدار ۲۵ نانومول اثر معنی‌داری در مصرف دان ایجاد نکرد. در تزریق داخل بطن مغزی دارو به مقدار ۵۰ نانومول، میزان مصرف دان در همه زمان‌های اندازه‌گیری شده اختلاف معنی داری ($p<0/05$) با گروه شاهد ایجاد کرد. در مقدار ۱۰۰ نانومول اثر معنی‌داری در مصرف دان ایجاد نشد (جدول ۱).

تزریق داخل بطن مغزی CSB6 در مقدار ۲۵ نانومول در هیچکدام از زمان‌های اندازه‌گیری شده، بطور معنی داری ($p<0/05$) باعث افزایش مصرف آب نسبت به گروه کنترل نشد. تزریق دارو در مقادیر ۵۰ و ۱۰۰ نانومول در هر کدام از زمان‌ها اثر معنی داری در مصرف آب ایجاد کرد (جدول ۲).

بحث

مطالعات قبلی امکان دخالت مدارهای گلوتاماترژیکی را در

www.SID.ir

Archive of SID

مکانیسم‌های کنترلی حاد مصرف دان در مرغ اهلی به اثبات رسانده است(۱) در این مطالعات مشخص شده که تزریق گلوتامات به داخل بطن راست مغز جوجه خروس‌هایی که ۲۴ ساعت از مصرف غذا محروم بودند موجب کاهش معنی‌داری در مصرف دان شده و این کاهش وابسته به مقدار بوده است. در گزارشات مربوط به کبوتر نیز تزریق گلوتامات به داخل بطن راست پرنده موجب کاهش مصرف دان شده است(۱۷).

در مورد نتایج حاصل از تزریق CSB6 مشخص شد که تزریق این ماده به داخل بطن مغز به صورت وابسته به مقدار موجب افزایش مصرف دان شده است و این افزایش نیز با گروه کنترل تفاوت معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) نشان داده، این نتیجه در راستای تحقیقات گذشته بود که در تزریق گلوتامات به داخل بطن راست جوجه خروسه‌ها و کبوتر به دست آمده بود (۱،۱۷). همچنین تحقیقاتی که در موش صحرایی انجام شده است نشان دهنده این مطلب است که تزریق آنتاگونیست‌های گیرنده گلوتامات اخذ غذا را افزایش می‌دهد(۴) لذا نتایج حاصل در این تحقیق در راستای نتایج حاصل از تحقیق در موش صحرایی است.

نتایج حاصل از تزریق CSB6 در مورد مصرف آب نشان می‌دهد که مصرف آب تجمعی افزایش یافته است و این افزایش نیز با گروه کنترل تفاوت معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) نشان می‌دهد و مانند مصرف دان این اثر کاملا وابسته به مقدار می‌باشد. از طرفی با توجه به اینکه مصرف دان در تمام گروه‌ها یکسان نبوده است، شاید یکی از دلایل افزایش مصرف آب توسط جوجه‌ها به دلیل افزایش مصرف دان بوده است و جهت مشخص شدن اثر قطعی گلوتامات بر مصرف آب بهتر است در تحقیقات بعدی میزان مصرف دان در تمام گروه‌ها یکسان باشد تا اثر افزایش مصرف آب به دنبال افزایش مصرف دان حذف گردد لذا نمی‌توان افزایش مصرف آب را قطعاً به اثر دارو نسبت داد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان وظیفه خود می‌دانند از معاونت پژوهشی و شورای محترم پژوهشی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران به خاطر تصویب و حمایت‌های مالی تشکر و قدردانی نمایند.

References

1. Baghbanzadeh, A., Babapour, V. (2001) CNS glutamatergic control of food intake in domestic fowl. Appetite. (37)267.
2. Bowery, N.G., Hill, D.R., Hudson, A.L. (1983) Characteristics of GABAB receptor binding sites on rat whole brain synaptic membranes Br.J.parmacol. 78:54-63.
3. Bungo, J.E. (1999) Induection of food intake by a nonadrenergic system using clonidine and fusaric acid in neonatal chick. Brain. Res. 826: 313-316.
4. Burns, G.A., Ritter, R.C. (1997) The non competitive NMDA antagonist MK-801 increase food intake in rats. Pharmacol. Biochem. Behav. 56:1145-9.
5. Denbow, D.M., Meads, Robertson., Mc Murty, J.P., Richards, M., Ashwell, C. (2000) Leptin -induced decrease in food intake in chiken. physiol. Behav. 69:359-362.
6. Denbow, D.M. (1999) Food intake regulatuon of birds. J. Exp. Zool. 283: 333-338.
7. Denbow, D.M. (1989) Peripheral and central control of food intake. Poul. Sci. 68:938-947.
8. Denbow, D.M., Vankery, H.P., Lacy, M.P., Dietrick, T.J. (1983) Feeding and drinking and body temperature of leghorn chicks: effects of ICV injections of biogenic amines, physiol. Behav. 31: 85-90.
9. Denbow, D.M., Van kery, H.P., cherry, J.A. (1982) Feeding and drinking response of young chicks to injection of serotonin into the lateral ventricle of the brain. Poul. Sci. 61:150-155.
10. Dube, M.G., Karla, V.S.P., Karla, P.S. (2000) Hypothalamic galanin is up-regulated during hyperphagia and increaned body weight gain induced by disruption of signaling in the ventromedial nuclens. Peptides. 21: 519-526.
11. Furuse, M.G. (2001) Intracerebroventricular injection of ghrelin and growth homone releasing factor inhibits food intake in neonatal chicks Neurosci. Lett. 361: 123-126.
12. Kuenzel, W.J and Fraley, G.S. (1995) Neuropeptide Y:Its role in the neural regulation of reproductive function and foodintake in avain and mammalian species. Poult. Biol. Rev. 6: 185-209.

www.SID.ir

Archive of SID

13. Kuenzel, W.J., Mc Muurty, J. (1988) Neuropeptide Y:brain localization and central effects on plasma insulin levels in chiken. Physiol. Behavz. 44:669-678.
14. Maede, S., Denbow, D.M. (2001) feeding, drinking and temperature responses of chiken to itracerebrovacular histamine. physiol. Behav. 73:65-73.
15. Melody, J.E. (1987) Neuropeptide regulation of appetite and weight. Endocrine Rev.8:256-287.
16. Stanley, B.G., Butterfield, B.S., Grewal, R.S. (1997) NMDA receptor Coagonist glycine site: Evidence for a role in lateral hypothalamic stimulation of feeding. Am. J. physiol. 21:R 790-R796.
17. Zeni, G.A., Kanner, B.I. (2000) Glutamatergic control of food intake in pigeons: Effects of central injections of glutamate, NMDA and AMPA receptor agonists and antagonists. Pharmacol. Biochem. Behav. 65: 67-74.
18. Zhang, R., Nakanishi, T., Ohgushi, A., Ando, R., Yoshimatso, T., Denbow, D.M., Furuse, M. (2001) Suppression of food intake induced by corticotrophin releasing factor family in neonate of chiken. Eur. J. Pharmacol. 427:37-41.

www.SID.ir

Archive of SID
J. Vet.Res. 63,5: 327-330,2008

EFFECT OF INTRACEREBROVENTRICULAR INJECTION OF GLUTAMATE VESICULAR UPTAKE INHIBITOR ON FOOD AND WATER INTAKE IN BROILERS.

Baghbanzadeh, A.*, Naseh, V.

Department of Physiology, Faculty of Veterinary Medicine, Tehran University,Tehran - Iran.

(Received 5 April 2008 , Accepted 9 July 2008)

Abstract:

Glutamate as one of the most important neurotransmitter in the brain has a significant role in control of foodintake. This study examined the central effect of Chicago sky blue 6B (CSB6) as glutamate vesicular uptake inhibitor, on food and water intake in broilers. After ICV injection of CSB6 cumulative food and water intake were measured in 15,30,60,120 and 180 minutes. CSB6 increased food intake ($p<0.05$) dose dependently and the most effective dose was 50 nmol.CSB6 increased water intake ($p<0.05$) dose dependenty too, and the most effective doses were 250 and 100 nmol.These findings suggest the involvement of glutamatergic circuits in food and water intake control mechanisms in broilers.

Key words: CSB6, intracerebro ventricular, food intake, water intake, broilers.

***Corresponding author's email: abaghban@ut.ac.ir, Tel: 021-61117055, Fax: 021-66933222**

www.SID.ir