Archive of SID

مجله تحقیقات دامپزشکی، ۱۳۹۰، دوره ۶۶، شماره ۱، ۳۴-۳۱

اثر تزریق داخل بطن مغزی آگونیست و آنتاگونیست گیرنده CB_1 بر مصرف دان در جوجه خروس‌های گوشتی

علی باغبان زاده* محمد رضا حاجی نژاد

۱) بخش فیزیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران.

(دریافت مقاله: ۱۳ تیر ماه ۱۳۸۸ ، پذیرش نهایی: ۲۸ بهمن ماه ۱۳۸۸)

چکیده

سیستم اندوکانابینوئید نقش مهمی در تنظیم اشتهای پستانداران بر عهده دارد. در این مطالعه نقش گیرنده‌های CB1 دستگاه عصبی پرندگان در کنترل اشتها مورد بررسی قرارگرفت. به این منظور آگونیست گیرنده‌های CB1 (ACEA) و آنتاگونیست گیرنده‌های CB1 (AM281) به داخل بطن جانبی راست پرندگان تزریق شد و میزان اخذ دان در فواصل ۱۵، ۳۰، ۶۰، ۱۲۰، و ۱۸۰ دقیقه بعد از تزریق اندازه‌گیری گردید. نتایج این بررسی نشان داد می‌دهد که آگونیست و آنتاگونیست گیرنده‌های CB1 به ترتیب سبب افزایش و کاهش مصرف دان می‌شوند. همچنین پیش تزریق آنتاگونیست CB1 اثر افزاینده اشتهای آگونیست CB1 را کاملاً مهار کرد. نتایج این بررسی با نتایج حاصل از آزمایشات انجام‌گرفته روی پستانداران مطابقت دارد.

واژه‌های کلیدی: گیرنده CB1، جوجه گوشتی، اخذ غذا.

مقدمه

تنظیم دریافت غذا شامل مجموعه‌ای از سازوکارهای فیزیولوژیک می‌باشد که بوسیله بخش‌های مختلف دستگاه عصبی مرکزی و محیطی و با استفاده از پیام‌های رسیده از قسمت‌های مختلف بدن مانند دستگاه گوارش، کبد و بافت چربی انجام می‌گیرد. در گردش خون هم هورمون‌هایی وجود دارند که با تعادل انرژی بدن در ارتباط می‌باشند. این پیام‌ها در مغز با هم تلفیق می‌گردند و میزان مصرف انرژی و مصرف غذا را تنظیم می‌کنند (۱۹). به لحاظ آن که مراکز عصبی تنظیم دریافت غذا در پستانداران در بخش‌های پایین مغز قرار گرفته‌اند لذا به نظر می‌رسد که اساس سازوکارهای تنظیم اشتها در پستانداران و پرندگان با یکدیگر مشابه باشد.

انتخاب ژنتیکی جهت افزایش وزن بدن منجر به تغییر مکانیسم‌های تنظیم اشتها در طیور گوشتی شده است. غلبه سیستم پاراسمپاتیک بر سیستم سمپاتیک یکی از مهم‌ترین تغییرات می‌باشد که نتیجه آن به‌صورت کاهش تحرک افزایش اشتها و افزایش سرعت رشد نمایان شده است (۷). تاکنون مطالعات زیادی پیرامون مکانیسم‌های فیزیولوژیک مصرف غذا در پرندگان و پستانداران انجام گرفته است. این بررسی‌ها با استفاده از تزریق داخل بطن مغزی و تزریق درون هسته‌ای میانجی‌های عصبی انجام گرفته است. در این بررسی‌ها مشخص شده است که بسیاری از قسمت‌های مغز در کنترل اشتها نقش دارند مهمترین مراکزی که بر روی اخذ غذا تأثیر می‌گذارند عبارتند از هسته هیپوتالاموس جانبی هسته هیپوتالاموس شکمی میانی هسته‌های پارابراکیال آمیگدال و هسته کمانی. سیگنال‌های محیطی مربوط به دریافت غذا مانند گرلین، انسولین، آدیپونکتین و لپتین به مراکز مغزی مانند هیپوتالاموس و تنه‌ی مغز برده شده و در آنجا این سیگنال‌ها با هم تلفیق شده و به این ترتیب میزان مصرف انرژی و مصرف غذا تنظیم می‌شود (۱۹).

اخیراً مطالعات زیادی در زمینه نقش سیستم اندوکانابینوئید در کنترل اشتها صورت گرفته است. سیستم اندوکانابینوئید شامل گروهی از ترکیبات چربی دوست مانند آناندامید و ۲-AG و گیرنده‌های آن‌ها می‌باشد که در کنترل اشتها، کاهش درد و فرایندهای حافظه نقش دارند. گیرنده‌های کانابینوئید شامل گیرنده‌های CB1 و CB2 می‌باشند. گیرنده‌های CB1 عمدتاً در دستگاه عصبی قرار دارند در حالی که گیرندهای CB2 بیشتر در دستگاه ایمنی مشاهده می‌شوند (۹).

تاکنون بیشتر مطالعات در زمینه نقش اندوکانابینوئیدها در کنترل زخذ غذا در پستانداران انجام گرفته است و اطلاعات کمی در مورد نقش این نوروترانسمیترها در کنترل زخذ غذای پرندگان وجود دارد. در این مطالعه اثرات تزریق داخل بطن مغزی آگونیست و آنتاگونیست گیرنده CB1 بر اخذ غذا در جوجه خروس‌های گوشتی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش کار

جهت انجام این تحقیق از ۳۶ قطعه جوجه خروس گوشتی نژاد Ross سویه 308 استفاده شد. جوجه‌ها در ۳ روز اول تحت دمای ۳۰ تا ۳۱ درجه سانتیگراد نگهداری و سپس درجه حرارت به ازاء هر روز یک درجه کاهش و از روز ۱۲ به بعد در دمای ۲۲ درجه سانتیگراد ثابت باقی ماند. مقدار رطوبت نسبی حدود ۴۰ درصد و روشنایی محیط ۲۴ ساعته بود. هنگامی که جوجه‌ها در سن چهار هفتگی به وزن ۷۰۰ تا ۷۵۰ رسیدند به آزمایشگاه فیزیولوژی منتقل شده و تحت عمل جراحی آسپتیک قرار گرفتند. ابتدا

*)نویسنده مسؤول: تلفن: ۶۱۱۱۷۰۸۱-۰۲۱، نمابر: ۶۶۹۳۳۲۲۲-۰۲۱ Email: abaghban@ut.ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱- میانگین اخذ غذای تجمعی پس از تزریق داخل بطن مغزی آگونیست گیرنده CB1 (ACEA) در زمان‌های مختلف (دقیقه) (mean±SEM)* نشان دهنده تفاوت معنی دار با گروه کنترل ($p<0.05$).

گروه / زمان	۱۵	۳۰	۶۰	۱۲۰	۱۸۰
ACEA (۵۰μM)	۹±۱/۰۶	۱۵±۲/۰۶	۱۸±۱/۹۶	۲۲±۲/۰۶	۲۵±۲/۳۰
ACEA (۱۰۰μM)	۱۲*±۲/۷۳	۱۴*±۴/۵۰	۲۳±۳/۰۶	۲۳±۲/۴۰	۲۹±۲/۷۳
ACEA (۲۰۰μM)	۱۴*±۲/۷۰	۲۲*±۲/۳۶	۲۶*±۴/۶۰	۳۲*±۴/۷۰	۳۶*±۳/۶۰
Control	۸±۱/۸۳	۱۲±۱/۰۶	۱۶±۲/۱۶	۱۹±۱/۲۶	۲۱±۳/۰۳

جدول۲ـ میانگین اخذ غذای تجمعی پس از تزریق داخل بطن مغزی آنتاگونیست گیرنده CB1 (AM281) در زمان‌های مختلف (دقیقه) (mean±SEM)* نشان دهنده تفاوت معنی دار با گروه کنترل ($p<0.05$).

گروه / زمان	۱۵	۳۰	۶۰	۱۲۰	۱۸۰
AM281 (۰/۵ mM)	۱۱± ۳/۱۳	۱۸±۱/۲۰	۲۴±۴/۷۰	۳۰±۴/۷۳	۳۵±۲/۴۰
ACEA (۱mM)	۸*±۱/۸۰	۱۶*±۴/۴۶	۲۱±۳/۴۰	۲۶±۱/۳۶	۳۵±۴/۰۳
ACEA (۲ mM)	۷*±۱/۱۳	۱۴*±۲/۳۰	۱۸*±۲/۱۶	۲۳*±۱/۰۶	۳۴±۵/۳۶
Control	۱۳±۲/۰۶	۱/۴۰۲۲±	۲۹±۱/۷۳	۳۶±۲/۰۶	۴۲±۲/۳۶

پرهای روی سر پرنده تراشیده شده و سپس به ازاء هر کیلو گرم وزن بدن میزان ۲۵ میلی‌گرم ماده بیهوشی پنتوباربیتون سدیم از طریق روش داخل وریدی تجویز شده و بلافاصله پس از بیهوشی، سر پرنده در دستگاه استریوتاکس (Stoling USA) با زاویه ۴۵ درجه تثبیت شده و با بتادین ضدعفونی شد. با استفاده از تیغ جراحی در پوست ناحیه بالای سر بصورت طولی برش داده شد و پس از انجام برش به منظور مشاهده نقطه برگما (محل تلاقی استخوان‌های پیشانی و آهیانه) سطح استخوان جمجمه تمیز شد. سپس نقطه برگما به‌عنوان نقطه صفر در نظر گرفته شد و محل کانول گذاری در مختصات AP:6.7mm (قدامی ـ خلفی) L:0.7 (جانبی) علامت‌گذاری شد. سپس سوراخی به قطر تقریبی دو میلیمتر با استفاده از مته برفی دندانپزشکی در جمجمه ایجاد شد و برای تثبیت کانول از سه عدد پیچ عینک در اطراف کانول استفاده شد. سپس کانول راهنما از جنس استیل زنگ نزن و به شماره ۲۳ و طول ۱۶ میلیمتر به میله عمودی دستگاه وصل شد و تا عمق ۳.۷ میلیمتر از سطح سخت شامه در داخل مغز فرو برده شد (Denbow1981). آنگاه کانول با آکریل و سیمان دندانپزشکی ثابت گردید. پس از سفت شدن سیمان اطراف کانول برای جلوگیری از ورود عوامل عفونی به داخل بطن‌ها از یک درپوش کانول که از سیم ارتودنسی نمره ۱۴ و به طول ۱۷ میلیمتر تهیه شده بود استفاده گردید. جهت استراحت و بهبودی پس از جراحی، پرندگان به مدت ۵ تا ۷ روز به قفس‌های انفرادی انتقال داده شدند.

این مطالعه در سه گروه آزمایشی هر گروه شامل یک گروه شاهد و سه گروه تیمار انجام شد. هر گروه شامل ۹ پرنده بود. آزمایش اول و دوم به ترتیب برای بدست آوردن غلظت موثر ACEA (آگونیست گیرنده CB1) و AM281 (آنتاگونیست گیرنده CB1) انجام شد. غلظت موثر ACEA ۱۰۰ میکرومولار (uM ۱۰۰) و مقدار موثر AM281 ۲ میلی‌مول (۲mM) بدست آمد. در آزمایش سوم مطابق جدول (۳) پرندگان غلظت موثر محلول حاوی آگونیست و آنتاگونیست گیرنده‌های کانابینوئید را به روش تزریق داخل بطن مغزی دریافت کردند. به پرنده ۱۰ میکرولیتر از محلول مورد نظر تزریق شد. در تمام آزمایش‌ها به گروه کنترل سرم فیزیولوژی استریل تزریق گردید.

برای تزریق محلول‌ها از سر سوزن شماره ۲۹ به طول ۱۷ میلیمتر که توسط لوله نازک پلی اتیلن به سرنگ همیلتون ۱۰ میکرولیتری متصل شده بود استفاده گردید. سپس میزان مصرف دان هر پرنده در فواصل ۱۵، ۳۰، ۶۰، ۱۲۰، ۱۸۰ دقیقه بعد از تزریق دارو اندازه‌گیری شد. در پایان آزمایش برای کسب اطمینان از صحت قرار گیری کانول در بطن جانبی، میزان ۱۰ میکرولیتر ماده رنگی بلو دو متیلن به بطن جانبی پرنده تزریق شد و پس از کشتن پرنده و تهیه مقاطع آناتومی، مواردی که کانول راهنما در بطن جانبی قرار نگرفته بود حذف گردید.

نتایج بدست آمده توسط نرم افزار spss به روش آنالیز واریانس یک طرفه مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. و برای تعیین جایگاه اختلاف معنی دار در بین گروه‌ها از آزمون توکی (Tukey) استفاده شد. درجه معنی‌داری به میزان ($p<0.5$) در نظر گرفته شد.

نتایج

نتایج حاصل از تزریق آگونیست و آنتاگونیست گیرنده‌های CB1 نشان داد که تزریق داخل بطن مغزی آگونیست گیرنده‌های (ACEA) CB1 موجب افزایش معنی داری در اخذ غذای تجمعی شد ($p<0.05$). در حالی که تزریق داخل بطن مغزی آنتاگونیست گیرنده CB1 (AM281) اخذ غذا را کاهش داد. بدین ترتیب تزریق داخل بطن مغزی ACEA با غلظت ۲۰۰ uM در دقایق ۱۵، ۳۰، ۶۰، ۱۲۰ و ۱۸۰ پس از تزریق بطور معنی داری اخذ غذا را افزایش داد. در حالی که تزریق همین دارو با غلظت ۱۰۰uM تنها در زمان‌های ۱۵ و ۱۳۰ اخذ غذا را افزایش داد. آنتاگونیست گیرنده CB1 (AM281) به مقدار ۲ mM در دقایق ۱۵، ۳۰، ۶۰ و ۱۲۰ پس از تزریق موجب کاهش معنی‌داری در اخذ غذا شد. اما در دقیقه ۱۸۰ تفاوت معنی‌داری در اخذ غذا بین گروه‌های آزمایش مشاهده نگردید. پیش تزریق آنتاگونیست CB1 توانست اثر افزاینده اشتهای آگونیست CB1 را

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۳ ـ میانگین اخذ غذای تجمعی پس از تزریق هم زمان آگونیست و آنتاگونیست گیرنده CB1 در زمان‌های مختلف (دقیقه) (mean±SEM)* نشان دهنده تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل ($p<0.05$).

زمان / گروه	۱۵	۳۰	۶۰	۱۲۰	۱۸۰
ACEA (۲۰۰μM)	۱۷*±۱/۰۶	۲۹*±۲/۲۰	۳۸*±۳/۳۶	۴۳*±۳/۰۳	۴۸*±۲/۶۰
ACEA (2μM)	۶*±۱/۷۳	۹*±۱/۳۶	۱۶*±۱/۰۶	۲۳*±۲/۲۳	۳۲±۳/۷۶
AM281 + ACEA	۸±۲/۳۶	۱۸±۳/۷۶	۲۸±۲/۳۶	۳۲±۴/۲۳	۴۲±۵/۰۳
Control	۱۰±۱/۰۳	۱۶±۲/۴۰	۲۵±۲/۷۳	۳۱±۲/۰۶	۳۹±۲/۷۳

بطور کامل در تمام زمان‌ها مهار نماید.

بحث

در سال‌های اخیر تحقیقات زیادی در مورد اثرات اندوکانابینوئیدها روی اشتها انجام شده است. این مطالعات نشان داده است که آگونیست‌های گیرنده‌های کانابینوئیدی نقش مهمی در تنظیم اشتها بر عهده دارند (۳،۴،۱۰). همچنین مطالعات انجام شده در این زمینه نشان داد که آنتاگونیست گیرنده‌های (SR1414716) CB1 می‌تواند به‌عنوان یک داروی کاهنده اشتها در درمان چاقی مورد استفاده قرار گیرد (۲). از آنجا که (SR1414716) علاوه بر مهار گیرنده CB1 می‌تواند گیرنده‌های CB2 را نیز مهار نماید لذا در مطالعه حاضر از AM281 به‌عنوان آنتاگونیست انتخابی CB1 استفاده گردید.

تحقیقات انجام گرفته در موش صحرایی نشان دهنده این مطلب است که تزریق داخل بطن مغزی آگونیست‌های گیرنده CB1 مصرف غذا را افزایش می‌دهد (۱۱). در حالی که تزریق داخل بطن مغزی آنتاگونیست (AM281) CB1 سبب کاهش معنی‌دار مصرف غذا گردید (۱۸). سایر آنتا گونیست‌های گیرنده CB1 نیز اثرات مشابه داشتند. حتی یک دز تزریق تزریق داخل وریدی آنتاگونیست (AM251) CB1 سبب کاهش اشتها به‌مدت ۶ روز شد (۱).

در مطالعه حاضر تزریق آگونیست انتخابی گیرنده‌های (ACEA) CB1 مصرف دان را در جوجه خروس‌های گوشتی افزایش داد. لذا نتایج این مطالعه مشابه نتایج مطالعات انجام شده در موش صحرایی می‌باشد.

همچنین تزریق داخل بطن مغزی آنتاگونیست CB2 (AM281) سبب کاهش معنی‌دار مصرف دان در جوجه خروس‌های گوشتی گردید. این نتیجه نیز با نتایج مطالعات انجام شده در موش صحرایی مطابقت داشت با این تفاوت که تزریق AM281 مصرف دان را در تمام زمان‌ها کاهش نداد. علت این تفاوت ممکن است کم بودن غلظت آنتاگونیست باشد. لذا بهتر است در مطالعات بعدی از محلول‌های دارای غلظت بالاتر آنتاگونیست استفاده شود.

به‌طور خلاصه، نتایج این مطالعه نشان می‌دهد در پرندگان، همانند پستانداران سیتم اندوکانابینوئید نقش مهمی در کنترل اخذ غذا برعهده دارد. علاوه بر این از آن جا که پیش تزریق آنتاگونیست CB1 سبب مهار اثر افزاینده اشتهای آگونیست CB1 گردید می‌توان این‌گونه استنباط کرد که سیستم کانابینوئید اثرات افزاینده اشتهای خود را از طریق گیرنده‌های CB1 اعمال می‌کند.

References

1. Chambers, A. P., Koopmans, H., Pittman, K. (2006) AM 251 produces ustained reductions in food intake and body weight that are resistant to tolerance and conditioned taste aversion. Br. J. Pharmacol. 147: 109-116.
2. Clombo, J., Agabio, R., Diaz, G. (1998) Appetite supression and weight loss after thee cannabinoid antagonist SR141716A.Life sci. 63: 113-117.
3. Cota, D., Marsicano, B Lutz., Vicennati, G. K., Stalla, R., Pasquali, U., Pagotto, J. (2003) Endogenous cannabinoid system as a modulator of food intake. Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord. 27:289-301.
4. David, B., Gareth, P., Gavin, G., Thompson, J. (2003) The therapeutic potential of cannabis. lancet Neurol. 2: 291-298.
5. Denbow, D.M. (1989) Peripheral and central control of food intake. Poult. Sci. 68: 938-947.
6. Daniela, C., Giovanni, M., Matthias, T. (2003) The endogenous cannabinoid system affects energy balance via central orexigenic drive and peripheral

www.SID.ir

Archive of SID

lipogenesis.J. Clin. Invest. 112: 423-431.

7. Denbow, D.M. (1999) Food intake regulatuon of birds. J. Exp. Zool. 283: 333-338.
8. Dimarzo,V., Matias, I. (2005) Endocannabinoid control of food intake and energy balance. Nature Neurosci. 8:585-589.
9. Grotenherman, F. (2006) Cannabinoids and the endocannabinoid system. Br. J. Nutr. 90:729-734.
10. Gomez, R., Navarro, M., Ferrer, B. (2002) A peripheral mechanism for CB1 cannabinoid receptor-dependent modulation of feeding. J. Neurosci. 21: 229612-9617.
11. kirkham, T. C. (2003) Endogenous cannabinoids: a new target in the treatment of obesity. Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. 284: R343-R344,
12. Kuenzel, W. J., Beck, M. M., Teruyama, R. (2000) Neural sites and pathways regulating food intake in birds: A comparative analysis to mammalian systems. J. Exper. Zool. 283: 384-394.
13. Kuenzel, W. J., Masson, M. (1988) A stereotaxic atlas of the brain of the chicks. Johns Hopkins University Press. Baltimore, MD. USA.
14. Fowler, C. J., et al. (2001) Pharmacological properties of cannabinoid receptors in the avian brain: Similarity of rat and chicken Cannabinoid1 receptor recognition sites and expression of Cannabinoid2 receptor-like immunoreactivity in the embryonic chick brain. Pharmacol. toxicol. 81:213-222.
15. Ravinet- Trilloue, C., Arnone, M., Delegorge, C. (2003) Anti obesity effect of SR141716A a CB1 receptor antagonist, in diet induced obese mice. Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. 284: R345-R353.
16. Williams, M. C., kirkham, T. C. (2001) Synergistic effects of opioid and cannabinoid antagonists on food intake. Psychopharmachology. 153: 267-270.
17. Wiley, L. J., Burston, J., Leggett, D. (2005) CB1 cannabinoid receptor-mediated modulation of food intake in mice. Br. J. Pharmacol. 145: 293-300.
18. Werner, N. A., Koch, J. (2003) Effects of the cannabinoid antagonists AM281 and AM630 on deprivation-induced intake in Lewis rats. Brain. Res. 967: 290-292.
19. Wynne, K., Stanley, S., McGown, B., Bloom, S. (2005) Appetite control. J. Endocrinol. 184: 291-318.

www.SID.ir

Archive of SID

J.Vet.Res. 66,1:31-34,2011

THE EFFECT OF INTRACEREBROVENTRICULAR INJECTION OF CB_1 AGONIST AND ANTAGONIST ON FEED CONSUMPTION IN BROILER COCKERELS

Baghbanzadeh, A.*, Hajinezhad, M. R.

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

(Received 4 July 2009 , Accepted 17 February 2010)

Abstract:

Endocannabinoid system play a critical role in the regulation of appetite in mammals. In the present study, the effect of avian brain CB_1 receptor on food intake of broilers was studied. ACEA, a potent CB_1 agonist, and AM281, a potent CB_1 antagonist, were injected into the chicken right lateral cerebral ventricle and food intake was measured 15, 30, 60, 120, and 180 minutes post injection. The results indicate that CB_1 agonist and antagonist increase and decrease food intake, respectively. Also, pretreatment with CB_1 antagonist fully inhibits the CB_1-agonist-induced food-intake. The results of the study is consistent with the experiments carried out in mammals.

Key words: CB_1 receptor, broiler, food intake.

***Corresponding author's email: abaghban@ut. ac. ir, Tel: 021-61117081, Fax: 021-6693222**

www.SID.ir