مجله تازه های بیوتکنولوژی سلولی – مولکولی
دوره اول، شماره دوم، بهار 1390
Archive of SID

Research Article
مقاله تحقیقی

تاثیر تزریق داخل بطن مغزیCNQX بر اخذ غذا و آب تجمعی در جوجه

وحید ناصح[1*]، مرتضی زنده دل[2]، فرشید تقی زاده[3]

[1] استاد یار، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد پرند، تهران – ایران
[2] استادیار، گروه فیزیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران – ایران
[3] کارشناس، گروه بیولوژی، دانشکده علوم، دانشگاه پیام نور، کرج- ایران

چکیده

سابقه و هدف: مطالعات انجام شده پیرامون مکانیسم های فیزیولوژیک تنظیم اشتها در پستانداران و پرندگان نشان دهنده دخالت دو دسته از عوامل محیطی و مرکزی است .گلوتامات به عنوان مهم ترین میانجی عصبی تحریکی، در کنترل مرکزی و محیطی اخذ غذا در پستانداران و پرندگان نقش دارد. تزریق داخل بطن مغزی گلوتامات و آگونیست های آن منجر به کاهش شدید اخذ غذا شده است. گیرنده های یونوتروپیک گلوتامات شامل گیرنده های NMDA و غیر(NMDA (AMPA,Kainate می باشد. در این مطالعه اثرات تزریق داخل بطن مغزی CNQX به عنوان آنتاگونیست گیرنده های AMPA,Kainate در میزان اخذ غذا و آب تجمعی جوجه مورد بررسی قرار گرفت .

مواد و روش‌ها: هنگامی که جوجه ها به وزن 700 تا 750 گرم می رسیدند پس از بی هوشی تحت عمل جراحی آسپتیک قرارگرفته و در بطن جانبی مغز آن ها کانول گذاری صورت می گرفت. این مطالعه در چهار گروه آزمایشی یعنی یک گروه شاهد و سه گروه تیمار که در هر گروه 9 پرنده قرار می گرفت، انجام شد . پس از تزریق غلظت های مختلف دارو میزان اخذ غذا و آب تجمعی در دقایق 15 ، 30 ، 60 ، 120 و 180 اندازه گیری شد .

یافته ها: تزریق درون بطن مغزی CNQX به طور معنی داری باعث افزایش اخذ غذای تجمعی در مقایسه با گروه کنترل شد($P<0/5$)، که این اثر وابسته به مقدار بود. همچنین تزریق داخل بطن مغزی CNQX باعث کاهش اخذ آب تجمعی به صورت معنی دارشد ($P<0/5$)، که این اثر نیز وابسته به مقدار بود.

نتیجه گیری: بر اساس نتایج حاصل از این مطالعه گیرنده‌های غیر(non NMDA) NMDA در کاهش اخذ غذا نقش دارند. گیرنده‌های Kainate و AMPA در بروز اثرات تحریکی گلوتامات در اخذ آب در جوجه موثرند.

کلمات کلیدی : CNQX ، اخذ غذا و آب ، جوجه

مقدمه

کنترل فیزیولوژیک رفتار تغذیه ای در پستانداران و پرندگان بر مبنای پژوهش های گوناگون مورد ارزیابی قرار گرفته است. برخی از پژوهش ها با انگیزه مطالعه نقش گروهی از عوامل بیوشیمیایی نظیر میانجی های عصبی و مواد مغذی در تنظیم اخذ غذا به انجام رسیده اند. تحقیقات دیگر بر اساس تشخیص ساختمان ها و مسیرهای عصبی موثر در این تنظیم بوده است. در جریان پژوهش ها به طور کلی دو جنبه تنظیم مرکزی و محیطی مورد توجه قرار گرفته است. بررسی تنظیم مرکزی رفتار تغذیه ای، شامل تزریق داخل بطن مغزی و تزریق درون هسته ای میانجی های عصبی و بررسی رفتار تغذیه ای می باشد. تا به حال در مرغ مطالعاتی پیرامون نوروپپتیدها و میانجی های نوراپی نفرین (Denbow et al., 1983)، دوپامین و سروتونین (Denbow et al., 1982)، پرولاکتین، کوله سیستوکینین (Melody, 1987) هیستامین (Maede and Denbow, 2001) لپتین (Denbow et al., 2000) بومبزین (Melody, 1987) عامل آزاد کننده کورتیکوتروپین (Zhang et al., 2001) گرلین، گالانین، عامل آزاد کننده هورمون رشد (Dube et al., 2000; Furuse et al., 2001) گلوکاگن،گاسترین، نوروپتپد (Kuenzel and Fraley., 1995) و اسید گاما آمینو بوتیریک (Bowery et al., 1983) صورت پذیرفته است. امروزه نقش انواع مختلفی از میانجی های عصبی در ارتباط با تنظیم مرکزی اخذ غذا در پرندگان به اثبات رسیده است در این خصوص می توان به میانجی هایی نظیر گابا (Bowery et al., 1983) و گلوتامات (Baghbanzadeh and Babapour, 2001) اشاره نمود.

*آدرس نویسنده مسئول: گروه زیست شناسی، دانشکده علوم زیستی، ،دانشگاه آزاد اسلامی واحد پرند
Email: Vahid55vet@yahoo.com
تاریخ دریافت مقاله: 89/09/17
تاریخ پذیرش: 89/11/27
www.SID.ir

Archive of SID

اخیراً نشان داده شده است که گلوتامات به عنوان مهم ترین میانجی عصبی تحریکی در کنترل مرکزی و محیطی اخذ غذا و کنترل وزن بدندر پستانداران و کبوتر نقش دارد. تجویز عمومی، داخل بطن مغزی یا تجویز موضعی گلوتامات یا آگونیست های آن به داخل هیپوتالاموس جانبی یک پاسخ وابسته به مقدار در تحریک اخذ غذا در پستانداران ایجاد می نماید (Burns and Ritter, 1997) با این وجود تزریق عمومی و داخل هسته ای برخی آنتاگونیست های گیرندهٔ گلوتامات به داخل هسته سه جافی (Nucleus median raphe) یا هسته آکومبنس (Nucleus accumbens) موجب افزایش اخذ غذا می شود (Stanley et al., 1997). این مطالعات نشان می دهد که رفتار تغذیه ای توسط چندین مدار که میانجی عصبی آن ها گلوتامات است، هم بطور محیطی و هم به شکل مرکزی تنظیم می شود. با مطالعه بر نقش تزریق داخل بطن مغزی گلوتامات، مشاهده شده که این میانجی عصبی در جوجه خروس منجر به کاهش شدید اخذ غذا می شود (Denbow, 1989). گیرنده های یونوتروپیک گلوتامات به سه تحت واحد عمده، گیرنده های Kainate، AMPA و گیرنده های NMDA تقسیم می شوند. اگر چه هیچ آگونیست یا آنتاگونیستی به طور مشخص قادر به تمایز بین گیرنده های AMPA و Kainate نمی‌باشد، به همین دلیل این دو گیرنده را مجموعا گیرنده های غیر NMDA (Non -NMDA receptors) خوانده اند (Zeni et al., 2000). مطالعه حاضر تأثیر تزریق داخل بطن مغزی CNQX به عنوان آنتاگونیست مشترک گیرنده های AMPA و Kainate را در اخذ غذا و آب در جوجه بررسی می کند.

مواد و روش‌ها

الف)حیوان: جوجه از نژاد Ross 308 در قفس های انفرادی نگهداری شده، غذا و آب به طور مداوم در اختیار آن ها قرار گرفت. شرایط محیطی شامل روشنایی پیوسته (24 ساعته) و دمای آزمایشگاه در 2±22 ثابت می‌گردید و رطوبت نسبی حدود 40 در صد بود.

ب)جیره غذایی: جیرهٔ استارتر کرامبل شماره 201 با 20 درصد پروتئین و 2950 کیلو کالری انرژی بود که در کل دوره آزمایش به طور آزاد در اختیار پرندگان قرار گرفت.

ج)روش جراحی: هنگامی که جوجه ها به وزن 700 تا 750 گرم می رسیدند به آزمایشگاه فیزیولوژی منتقل شده و تحت عمل جراحی آسپتیک قرار می گرفتند. نخست پرهای بالای سر حیوان کاملاً تراشیده می شد بعد به ازای هر کیلو گرم وزن 25 میلی گرم ماده بیهوشی پنتوباربتون سدیم (Sagattal – Rhone. Meriaux - France) از طریق روش درون وریدی تجویز شد و بلافاصله بعد از بیهوشی، سر پرنده در دستگاه استریوتاکس (stoelting, USA) تثبیت شده و با بتادین و سپس با الکل ضد عفونی می شد. ضمناً نوک پرنده با زاویه 45 درجه خم شده و در دستگاه استریوتاکس ثابت گردید. پس از انجام برش جراحّی بالای جمجمه به سرعت با پنبه متصل به پنس پاکیزه می شد به نحوی که استخوان جمجمه به صورت کاملاً تمیز در معرض دید قرار می گرفت. در این حالت محل تقاطع استخوان های پیشانی و آهیانه را که برگما (Bregma) نام دارد و در حقیقت نقطه صفر آزمایش بود مشخص نموده و 3 محور دستگاه استریوتاکس قرائت می شد. پس از مشخص کردن نقطه ی برگما مختصات نقطه مورد نظر برای کانول گذاری در بطن جانبی پیدا شد. این مختصات نسبت به نقطه برگما عبارتند از 7/6 میلی متر در امتداد خط میانی به طرف قدام برگما و 7/0 میلی متر از خط میانی به طرف جانب جمجمه می باشد. نقطه مورد نظر روی جمجمه حیوان علامت گذاری شده سپس سوراخی به قطر 2 میلی متر با استفاده از مته برقی دندانپزشکی (Dental werk, Austria) در جمجمه ایجاد شد. این سوراخ برای قرار گرفتن کانول در بطن بود. سپس به منظور تعبیه سه عدد پیچ عینک در اطراف نقطه کانول گذاری سه سوراخ دیگر نیز به روی جمجمه ایجاد و سه پیچ کار گذاشته شد. با استفاده از پیچ ها و آکریل دندانپزشکی کانول مورد نظر در جای خود تثبیت شد. کانول راهنما از جنس استیل زنگ نزن به شماره 23 و طول 16 میلی متر به میله عمودی دستگاه استریوتاکس وصل شده و تا عمق 7/3 میلی متر از سطح سخت شامه در داخل مغز فرو برده می شد (Denbow et al., 1981). سپس آکریل دندانپزشکی در اطراف کانول و بر روی پیچ های عینک کار گذاشته شده روی جمجمه حیوان ریخته شد. پس از خشک و سفت شدن آکریل میله عمودی از کانول راهنما جدا گردید، در ضمن برای جلوگیری از مسدود شدن کانول و جلوگیری از ورود عوامل عفونی به درون بطن از طریق کانول از یک در پوش کانول که توسط سیم ارتودنسی نمره 14 (American Orthodonties, USA) و به طول 17 میلی متر تهیه شده بود استفاده شد. بعد ازعمل جراحی و کانول گذاری و ریختن پنی سیلین 100 هزار واحد بین المللی در موضع جراحی، پوست سر با نخ جراحی شماره صفر بخیه زده شد. سپس موضع را با بتادین ضد عفونی کرده و هر جوجه به قفس انفرادی خود منتقل می گردید و مدت 5-7 روز به آن ها استراحت داده شد.

د)روش آزمایش: این مطالعه در چهار گروه آزمایشی یعنی یک گروه شاهد و سه گروه تیمار انجام شد. در هر گروه تعداد 9 پرنده قرار می گرفت. داروی مورد استفاده به عنوان آنتاگونیست مشترک گیرنده های AMPA و Kainate یعنی CNQX با مقادیر 430،

www.SID.ir

Archive of SID

215 و 5/ 107 نانومول استفاده شد. ضمناً در مراحل آزمایش از سرم فیزیولوژی استریل به عنوان کنترل استفاده می شد.

ه)روش تزریق : برای تزریق محلول ها از سر سوزن شماره 29 به طول 17 میلی متر که توسط لوله نازک پلی اتیلن به طول 50 سانتی متر به سرنگ هامیلتون متصل شده بود استفاده گردید. هم چنین قبل از تزریق در دان خوری ها و آبخوری ها دان تازه و آب قرار گرفت و میزان اخذ آب و غذای تجمعی هرپرنده در فواصل زمانی 15 ، 30 ، 60 ، 120 و 180 دقیقه بعد از تزریق اندازه گیری شد. برای کسب اطمینان از قرار گیری صحیح کانول راهنما در بطن جانبی در پایان آزمایش ها مقدار 10 میکرولیتر ماده رنگی بلودومتیلن به وسیله کانول تزریق به درون بطن جانبی وارد شد و پس از کشتن پرنده و خارج کردن مغز حیوان با تهیه مقاطع آناتومی مواردی که کانول راهنما در بطن جانبی مغز قرار نگرفته بود حذف گردید.

جدول 1- میانگین اخذ غذای تجمعی (گرم) پس از تزریق داخل بطن مغزی CNQX در زمان های مختلف (دقیقه) (SEM ± میانگین).

زمان(دقیقه) گروه	15	30	60	120	180
کنترل	0/889±12/11	0/687±19/44	1/646±23/44	2/895±35/56	1/054±35/56
CNQX 430 نانومول	2/987±13/44	2/887±22/23	3/482±32/11	3/753±42/67	4/074±49/89
CNQX 215 نانومول	*1/538±22/56	*0/225±29/33	*2/941±35/11	*1/1±43/67	*4/740±55/33
CNQX 107/5نانومول	7/56±+1/765	2/618±13/22	3/062±17/89	3/371±22/44	3/257±26/22

* تفاوت معنی دار با گروه کنترل (P<0/05)

و) روش انجام تست آماری و تجزیه و تحلیل نتایج :

برای تجزیه و تحلیل نتایج حاصل از مطالعه، 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 معنی دار از بین گروه ها از آزمون بونفرونی (Bonfferoni) استفاده شد. درجه معنی دار بودن به میزان (P<0/05) در نظر گرفته شد.

یافته ها

الف) نتایج حاصل از تزریق دارو بر اخذ غذا:

در تزریق داخل بطن مغزی داروی CNQX از بین مقادیر 430، 215 و 107/5 نانومول غلظت 215 نانومول به طور معنی داری باعث افزایش اخذ غذای تجمعی شد (p<0/05) در ضمن افزایش اخذ غذا وابسته به مقدار بود (جدول 1).

ب) نتایج حاصل از تزریق دارو بر اخذ آب:

در تزریق داخل بطن مغزی CNQX اخذ آب تجمعی به طور معنی داری کاهش یافته بود (P<0/05) که از بین مقادیر 430 ، 215 و 107/5 نانومول مؤثرترین مقدار 107/5 نانومول بود لذا این اثر در کاهش اخذ آب وابسته به مقدار بود (جدول 2).

www.SID.ir

Archive of SID

جدول 2- میانگین اخذ آب تجمعی (گرم) پس از تزریق داخل بطن مغزی CNQX در زمان های مختلف (دقیقه) (SEM ± میانگین).

زمان(دقیقه) گروه	15	30	60	120	180
کنترل	0/572±5/78	5/326±10/33	4/841±33/00	3/215±50/11	4/091±61/78
CNQX 430 نانومول	2/505±9/22	3/977±14/78	2/943±32/67	4/180±73/44	7/995±80/44
CNQX 215 نانومول	3/89+±0/696	2/461±7/33	3/724±24/67	2/581±49/11	5/470±70/56
CNQX 107/5نانومول	*0/662±0/78	*0/824±1/89	*1/354±4/33	*4/378±10/56	*3/596±30/44

* تفاوت معنی دار با کنترل (P<0/05)

بحث

با توجه به نتایجی که از پژوهش های قبلی مربوط به نقش گیرنده های گلوتامات در اخذ غذا در جوجه های گوشتی حاصل شده (Baghbanzadeh and Babapour, 2001) تزریق گلوتامات به داخل بطن راست مغز جوجه خروس موجب کاهش معنی داری در اخذ غذا شده است که این کاهش وابسته به مقدار بوده و نتایج مشابهی در کبوتر نیز به دست آمده است. از سوی دیگر تزریق گلوتامات به درون هسته هیپوتالاموس جانبی در موش رات نر و محروم از غذا در نخستین ساعت پس از تزریق، افزایش اخذ غذا را موجب شده است (Dee et al., 1993). تفاوت نتایج حاصل از تزریق گلوتامات به داخل هسته هیپوتالاموس جانبی در موش رات در مقایسه با نتایج حاصل در جوجه می تواند مربوط به اختلافات بین گونه ای باشد. بر اساس نتایج حاصل از این مطالعه تزریق درون بطن مغزی CNQX به عنوان آنتاگونیست گیرنده های غیر NMDA به طور معنی داری منجر به افزایش اخذ غذای تجمعی شد. از آنجا که بر مبنای نتایج حاصل از پژوهش های قبلی مربوط به تنظیم گلوتاماترژیک اخذ غذا در جوجه (Baghbanzadeh and Babapour., 2001) تزریق آنتاگونیست گیرنده های متابوتروپیک و یونوتروپیک، افزایش معنی داری را در میزان اخذ غذا موجب شده بود وبا توجه به نتایج حاصل از این مطالعه، گیرنده های غیرNMDA (Non-NMDA receptors) در کاهش اخذ غذا نقش دارند.

این مطالعه در راستای مطالعه ای بود که در کبوتر انجام شده بود (Paschoalini et al., 2000) همچنین تزریق داخل بطن مغزی CNQX باعث کاهش اخذ آب به صورت معنی دار شد که وابسته به مقدار بود لذا احتمالاً گیرنده های AMPA, Kainate در بروز اثرات تحریکی گلوتامات در اخذ آب در جوجه موثرند.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه تهران و تمام کسانی که ما را در این طرح یاری رساندند، تقدیر و تشکر می شود.

www.SID.ir

Archive of SID

References

1- Baghbanzadeh A, Babapour V. CNS glutamatergic of food intake in domestic fowl. Appetite, 2001; 37 : 267.

2- Bowery NG, Hill DR, Hudson AL. characteristics of GABAb receptor binding sites on rat Whole brain synaptic membranes. Br J Pharmacol, 1983; 78:54 -63.

3- Bungo JE. Induction of food intake by a nonadrenergic system using clonidine and fusaric acid in neonatal chick. Brain Res, 1999; 826: 313 -316.

4- Burns GA, Ritter RC. The non competitive NMDA antagonist MK-801 increase foodintake in rats. Pharmacol. Biochem Behav, 1997; 56:1145 -9.

5- Dee MG, Spears LC, Stanely BG. Lateral hypothalamic injection of glutamate, Kainic acid, N-methyl –D-aspartic acid rapidly elicit intense transient eating in Rats . Brain Res, 1993; 613: 8 -95

6- Denbow DM, Meads Robertson, Mc Murty JP, Richards M, Ashwell C. Leptin –induced decrease in food intake in chicken. Physiol Behav, 2000; 69:359 -362.

7- Denbow DM. Peripheral regulation of foodintake in poultry. Poult Sci, 1993; 70:643 -652.

8- Denbow DM Peripheral a nd central control of foodintake. Poult Sci, 1998; 68:938 -947.

9- Denbow DM, Vankery HP, Lacy MP, Dietrick TJ. Feeding and drinking and body temperature of leghorn chicks: effects of ICV injections of biogenic amines. Physiol Behav, 1983; 31: 85 -90

10- Denbow DM,Van kery HP, Cherry JA.Feeding and drinking response of young chicks to injection of serotonin into the lateralventricle of the brain. Poult Sci, 1982; 61:150 -155.

11- Dube MG, Karla PS. Hypothalamic galanin is up -regulated during hyperphagia and increased body weight gain induced by disruption of signaling in the ventromedial nucleus. Peptides, 2000; 21(4) 519 -526.

12- Furuse M et.al. Intracerebroventricular injection of ghrelin and growth homone releasing factor inhibits foodintake in neonatal chicks. Neuro Sci Lett, 2001; 361: 123 -126.

13- Kanner BI, Marva E. Efflux of L-glutamate by synoptic plasma membrane Vesicles isolated from rat brain.Biochem, 1982; 21 (13): 3143 -7 .

14- Kuenzel WJ, Fraley GS. Neuropeptide Y:Its role in the neural regulation of reproductive function and foodintake in avain and mammalian species. Poult Biolo, 1995; 6(3): 185 -209.

15- Kuenzel WJ, Mc Muurty J. Neuropeptide Y:brain localization and central effects on plasma insulin levels in chicken. Physiol Behav, 1988; 44:669 -678.

16- Maede s, Denbow DM. Feeding ,drinking and temperature responses of chiken to itracerebrovetricular histamine,. Physiol Behav, 2001; 73: 65 -73.

17- Melody JE. Neuropeptide regulation of appetite and weight, endo. Rev, 1987; 8(3): 256-287.

18. Paschoalini MN, Freitas CG, De carvalho NA, Seidler HB, Zeni LA. Glutamateergic Control of foodintake in pigeons. Pharmacol. Biochem Behav, 2000; 65:67 -74

19. Stanley BG, Butterfield Bs, Grewal, RS. NMDA receptor coagonist glycine site: Evidence for a role in lateral hypothalamic stimulation of feeding. Amer J Physiol, 1997; R 790 -796.

www.SID.ir

Archive of SID

20- Zeni Lucia et.al. Glutamatergic control of food intake in Pigeons: effects of central injections of glutamate ,NMDA and AMPA receptor agonists and antagonists Pharmacol Biochm. Behav, 2000; 65(1) :67 -74.
21- Zhang R, Nakanishi T , Ohgushi A, Ando R, Yoshimatso T, Denbow DM ,Furuse M. Suppression of food intake induced by corticotropin releasing factor family in neonate of chiken .Eur J Pharmacol, 2001; 427:37 -41 .

www.SID.ir