Archive of SID

اثر مصرف غذا بر بیان ژنی گیرنده‌های فعال کننده تکثیر پروکسیزومی در فولیکول F1 مرغان مادر گوشتی

حسین حسن‌پور[۲،۱*]، نیلوفر توانگرراد[۳]، علی کدیور[۴]، اردشیر شیخ احمدی[۵]

۱.استاد، گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد- ایران.
۲.پژوهشکده فناوری جنین دام، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد- ایران.
۳.دانش‌آموخته دانشکده دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد- ایران.
۴.استادیار، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد- ایران.
۵.استادیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه کردستان، سنندج- ایران.

دریافت: ۲۰ مهر ماه ۹۴ **پذیرش:** ۲۷ آبان ماه ۹۴

چکیده

به منظور ارزیابی دخالت گیرنده‌های فعال کننده تکثیر پروکسیزومی (PPARα, PPARβ/δ, PPARγ) در کاهش تولید تخم در مرغان مادر گوشتی با مصرف غذایی نامناسب، بیان ژنی این رسپتورها در سلول‌های گرانولوزای فولیکول F1 با Real time-PCR کمی، بررسی شد. مرغان (با سن ۳۰ هفته) در سه گروه مختلف مصرف غذایی (FI) قرار داده شدند: گروه شاهد با مصرف غذایی استاندارد، گروه FI-٪۲۰ با مصرف غذایی ۲۰ درصد کمتر از گروه شاهد و گروه FI+٪۴۰ با مصرف غذایی ۴۰ درصد بیشتر از گروه شاهد. این مرغان به مدت ۳۰ روز با سه تکرار در هر گروه (۱۰ پرنده در هر تکرار؛ ۳۰ پرنده در هر گروه) نگهداری شدند. تولید تخم به طور معنی‌داری در دو گروه تیمار نسبت به گروه شاهد کاهش یافت ($p<۰/۰۵$). بیان ژنی PPARγ در فولیکول F1 گروه FI+٪۴۰ کمتر از شاهد و گروه FI-٪۲۰ بود ($p<۰/۰۵$). رونوشت ژن‌های PPARα و PPARβ/δ در فولیکول F1 گروه‌های مختلف، تفاوتی با هم نداشتند. نتیجه اینکه افزایش مصرف غذا موجب افت تولید تخم و نقصان در بیان ژنی PPARγ در فولیکول F1 می‌شود در حالی که بیان ایزوفرم‌های PPARα و PPARβ/δ تغییری نکرد. کاهش سطح mRNA مربوط به PPARγ در فولیکول F1 مرغان مادر گوشتی گواهی بر دخالت این گیرنده در اختلالات ناشی از مصرف زیاد غذاست.

واژه‌های کلیدی: PPAR، سلول‌های گرانولوزا، مصرف غذا، مرغان مادر گوشتی.

مقدمه

مرغان مادر گوشتی تمایل زیادی به نشان دادن اختلالات متابولیک دارند. در این پرندگان توانایی در رشد سریع در طی مصرف آزاد غذا منجر به چاقی و اختلال در تولید مثل می‌شود (۱۴ و ۱۵). این نوع اختلالات ناشی از افزایش در مصرف غذا و انتخاب ژنتیکی برای رشد سریع بوده است. مرغان مادر گوشتی که به طور آزاد غذا مصرف می‌کنند افت قابل توجه‌ای از تولید تخم در مراحل اولیه و در کل دوره تخم‌گذاری را نشان می‌دهند. مرغان بالغ که آزادانه غذا مصرف می‌کنند، معمولاً بیش از نیاز خود مصرف می‌کنند که در نتیجه بروز اختلالات متابولیکی در این، وضعیت افزایش می‌یابد (۴ و ۲۳).

گیرنده‌های فعال‌کننده تکثیر پروکسیزومی خانواده‌ای از گیرنده‌های داخل هسته‌ای هستند که شامل PPARα, PPARβ/δ و PPARγ هستند و از طریق اتصال لیگاندهای طبیعی مانند اسیدهای چرب غیراشباع یا به

* پست الکترونیک نویسنده‌ی مسؤول: hassanpour-h@vet.sku.ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID

وسیله لیگاندهای ساختگی فعال می‌شوند (۲۸). از زمان کشف این گیرنده‌ها در سال ۱۹۹۰ عمل‌کردهای بی‌شماری به این گیرنده‌ها نسبت داده شده است. این گیرنده‌ها علاوه بر افزایش حساسیت انسولینی موجب تنظیم توده چربی و تکثیر سلولی نیز می‌شوند و فعالیت‌های التهابی را تعدیل می‌کنند (۱۳). PPARα تنظیم کننده بیان ژن‌های دخیل در بتا- اکسیداسیون اسیدهای چرب است تا هموستاز انرژی را متعادل سازد در حالی که PPARβ می‌تواند سیگنال‌های التهابی را متوقف سازد (۱۱). PPARγ در ذخیره اسیدهای چرب مشارکت دارد تا متابولیسم گلوکز را کنترل کند. باید توجه داشت که متابولیسم گلوکز نقش مهمی در پاتوژنز بیماری‌هایی همچون دیابت و چاقی دارد (۸ و ۲۹). این گیرنده‌ها در قسمت‌هایی از دستگاه عصبی مرتبط با تولیدمثل و در خود دستگاه تولیدمثل مانند گنادها (تخمدان و بیضه)، رحم، پروستات و غدد پستانی حضور دارند. گزارش شده است که PPARs بیان ژن‌های مورد نیاز در تکامل فولیکولی، تخمک‌گذاری، بلوغ اووسیت و بقای جسم زرد را تنظیم می‌کنند (۱۲). بر اساس این مطالعات، پژوهش حاضر طوری طراحی شد تا ارزیابی کند که: آیا اختلال تولید مثلی حاصل از مصرف زیاد یا کم غذا در مرغان مادر گوشتی، همراه با تغییر در بیان ژنی گیرنده‌های فعال کننده تکثیر پروکسیزومی است؟

مواد و روش کار

در این پژوهش، تعداد ۹۰ قطعه مرغ مادر گوشتی (Arbor Acres Plus Fast Feathering) در سن ۳۰ هفتگی تهیه شد. جیره مرغان بر اساس توصیه‌های غذایی Arbor Acres Plus آماده شد (۲). جیره به صورت مش بر پایه ذرت و سویا بود که میزان انرژی قابل متابولیسم آن در هر کیلوگرم ۱۱/۳ MJ و پروتئین خام آن ۱۵۴ g در هر کیلوگرم جیره بود (۲۰). مرغان در حدود ساعت ۸-۷ صبح تغذیه می‌شدند. میزان نور نیز در حدود ۱۴ ساعت در شبانه‌روز بود. مرغان در سراسر دوره نگهداری، دسترسی آزاد به آب آشامیدنی داشتند. میزان روزانه مصرف غذا و تولید تخم، ثبت می‌شد. مرغان در سه گروه مختلف با مصرف غذایی (FI) تقسیم شدند. این گروه‌ها عبارت بودند از گروه شاهد با مصرف غذایی استاندارد (۱۶۳ گرم در روز)، گروه FI-٪۲۰ با مصرف غذایی ۲۰ درصد کمتر از گروه شاهد (۱۳۰/۴ گرم در روز) و گروه FI+٪۴۰ با مصرف غذایی ۴۰ درصد بیشتر از گروه شاهد (۲۲۸/۲گرم در روز). این مرغان به مدت ۳۰ روز با سه تکرار در هر گروه (۱۰ پرنده در هر تکرار؛ ۳۰ پرنده در هر گروه) نگهداری شدند. در روز ۳۰، تعداد ۱۲ قطعه مرغ از هر گروه، ۴-۲ ساعت قبل از زمان تخم‌گذاری (مطابق با زمان تخم‌گذاری ثبت شده برای هر پرنده) سر بریده شدند. فولیکول‌های تخمدانی از تخمدان جدا و سپس بر اساس وزن فولیکول‌ها، بزرگ‌ترین فولیکول (F1) انتخاب شد (۵ و ۲۷). لایه گرانولوزا از فولیکول F1 جدا شده، در ازت مایع منجد و نهایتاً در فریزر ۷۰°C - ذخیره شد.

RNA تام از لایه گرانولوزا با استفاده از معرّف RNX Plus (سیناکلون، کرج، ایران) استخراج شد و سپس با آنزیم DNase (سیناکلون، کرج، ایران) تیمارشد تا آلودگی احتمالی DNA در آن‌ها پاک شود. غلظت و کیفیت RNA با استفاده از اسپکتروفتومتری ارزیابی شد. تنها نمونه‌هایی که نسبت جذبی (۲۶۰A / ۲۸۰A) بین ۱/۹ و ۲/۱ را داشتند برای ساختن cDNA استفاده شدند. RNA تام همه نمونه‌ها با کیت (Takara Bio PrimeScript™RT Reagent Inc., Japan) تبدیل به cDNA شدند (۱).

میزان رونوشت ژن‌های PPARα, PPARβ, PPARγ و β-actin با تکنیک Real time – PCR کمی و با استفاده از کیت SYBR Premix Ex Taq™II (Takara Bio Inc., Japan) افزوده‌سازی و اندازه‌گیری شد (۱). برای نرمال‌سازی نمونه‌های cDNA مابین نمونه‌ها، از ژن β-actin به عنوان

www.SID.ir

Archive of SID

استاندارد داخلی استفاده شد استفاده از این ژن بر اساس پیشنهاد نرم‌افزار geNORM بود. این نرم‌افزار تایید کرد که در بین ژن‌های استاندارد متداول، ژن β-actin ثابت‌ترین ژن در این آزمایش بود. پرایمرهای اختصاصی استفاده شده در این پژوهش برای PCR، در جدول ۱ ذکر شده است. این پرایمرها با استفاده از نرم‌افزار Primer-Blast (www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/index.cgi?LI NK_LOC = BlastHome) طراحی شدند. افزوده‌سازی ژن‌ها در سه تکرار؛ برنامه حرارتی PCR شامل ۴۰ سیکل از ۹۵°C به مدت ۳۵ ثانیه، ۶۴°C به مدت ۳۳ ثانیه و ۷۲°C به مدت ۲۹ ثانیه انجام شد. برای ارزیابی آلودگی احتمالی در معرف‌های PCR، از کنترل بدون نمونه و کنترل حاوی RNA (بدون cDNA) استفاده شد. با استفاده از سیکل آستانه (Ct) به دست آمده در PCR برای هر نمونه، میزان بازده (E) هر نمونه با استفاده از نرم‌افزار LinRegPCR محاسبه شده و سپس با استفاده از فرمول $E_{\beta\text{-actin}}^{(Ct\ \beta\text{-actin})} / E_{target}^{(Ct\ sample)}$ میزان بیان هر ژن نسبت به β-actin محاسبه گردید (۱۰ و ۲۵). در پایان مقایسه آماری بین گروه‌های مختلف انجام گرفت.

همه داده‌ها به صورت میانگین ± خطای استاندارد بیان شده است. میانگین وزن، میزان تولید تخم‌مرغ و بیان نسبی ژن‌ها (ژن مورد آزمایش نسبت به β-actin) با آزمون آماری One way-ANOVA و با نرم‌افزار آماری SigmaStat (Version 3.11) تجزیه و تحلیل گردید و سطح معنی‌داری آزمون نیز ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

جدول ۱- پرایمرهای اختصاصی جوجه مورد استفاده در real time-PCR کمی PPAR، گیرنده‌های فعال کننده تکثیر پروکسیزومی

ژن هدف	پرایمرها	اندازه محصول PCR	شماره دسترسی
β-Actin	5'-AGCGAACGCCCCCAAAGTTCT-3' 5'-AGCTGGGCTGTTGCCTTCACA-3'	139 bp	NM_205518.1
PPARα	5'-CAAATCTATCCCTGGCTTCTCC-3' 5'-TACCAGCATCCCATCTTTGTTC-3'	124 bp	NM_001001464.1
PPARβ/δ	5'-GCGACCTGTCTCTGTTTGTG-3' 5'-TGCTCGGAGGATGTTGTCTT-3'	104 bp	NM_204728.1
PPARγ	5'-GAGATCGCCCAGGTTTGTT-3' 5'-AGCTGTGATGACTCTGGATG-3'	109 bp	NM_001001460.1

نتایج

نتایج مربوط به وزن بدن و میزان تولید تخم در جدول ۲ درج شده است. مصرف زیاد غذا به طور معنی‌داری موجب افزایش وزن در گروه FI+٪۴۰ نسبت به گروه شاهد شد در حالی که مصرف کم غذا در گروه FI-٪۲۰ موجب کاهش وزن گردید ($p<۰/۰۵$).

بیان ژنی PPARα, PPARβ/δ, PPARγ و β-actin در فولیکول F1 مرغان مادر گوشتی با تکنیک Real time PCR کمی تعیین گردید. نتایج به دست آمده در جدول ۲ درج شده است. ژن‌های PPARα, PPARβ/δ و PPARγ در فولیکول F1 مرغان تمام گروه‌ها بیان شد. بیان ژنی PPARγ درفولیکول F1 گروه FI+٪۴۰ کمتر از شاهد و گروه FI-٪۲۰ بود ($p<۰/۰۵$). این کاهش در بیان ژن PPARγ حدود ۵۵/۸ درصد نسبت به گروه شاهد و ۵۵ درصد نسبت به گروه FI-٪۲۰ بود. رونوشت ژن‌های PPARα و PPARβ/δ در فولیکول F1 گروه‌های مختلف، تفاوتی با هم نداشتند.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۲- مقایسه پارامترهای مختلف اندازه‌گیری شده بین گروه‌های مورد آزمایش از مرغان مادر گوشتی

	شاهد	FI-٪۲۰	FI+٪۴۰
وزن بدن (گرم)	۳۵۱۴ ± ۴۷/۵[a]	۳۱۰۷ ± ۵۰[b]	۴۰۷۱ ± ۵۱[c]
تولید تخم مرغ (٪)	۸۱/۶± ۱/۰۶[a]	۷۸/۱ ± ۰/۹۶[b]	۷۰/۱ ± ۱/۹۵[c]
بیان ژن PPARα	۰/۰۶۹ ±۰/۰۰۸	۰/۰۸۱ ± ۰/۰۱۳	۰/۰۷۷ ± ۰/۰۰۹
بیان ژن PPARβ/δ	۱/۵۹۳ ± ۰/۴۲۸	۱/۸۸۵ ± ۰/۳۱۹	۱/۵۷۹ ± ۰/۴۰۲
بیان ژن PPARγ	۰/۵۶۱ ± ۰/۰۹۴[a]	۰/۵۵۱ ± ۰/۰۸۸[a]	۰/۲۴۸ ± ۰/۰۴۴[b]

[a-c] حروف غیرمشابه در هر سطر نشانه وجود تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های آزمایشی است ($p<0/05$). PPAR، گیرنده‌های فعال کننده تکثیر پروکسیزومی. گروه شاهد با مصرف غذایی استاندارد، گروه FI-٪۲۰ با مصرف غذایی ۲۰ درصد کمتر از گروه شاهد و گروه FI+٪۴۰ با مصرف غذایی ۴۰ درصد بیشتر از گروه شاهد.

بحث

این مطالعه طراحی شد تا سطوح رونوشت‌های PPAR در سلول‌های گرانولوزای مرغان مادر گوشتی با مصرف غذایی مختلف ارزیابی شود. مشخص شده است که مصرف کم یا زیاد غذا در مرغان تخم‌گذار می‌تواند موجب اختلالات تولیدمثلی شود (۶ و ۲۴). در پژوهش حاضر، افت تولید تخم همراه با کاهش یا افزایش مصرف غذا است که موافق با مطالعات قبلی بوده است. افت تولید احتمالاً ناشی از طولانی شدن ماندگاری فولیکول‌ها در مرغان مورد آزمایش بوده است. این زمان طولانی، سیگنال‌های هورمونی و متابولیکی داخل فولیکول را تغییر می‌دهد که می‌تواند منجر به اختلال در سلول‌های گرانولوزا شده و تحلیل فولیکول را به همراه داشته باشد (۱۳ و ۳۱). در این پژوهش، ژن PPARγ در لایه گرانولوزای فولیکول F1 بیان شد که در گروه FI+٪۴۰ این بیان ژنی کاهش یافت. نشان داده شد که در گاو، بیان PPARγ در جسم زرد بعد از تخمک‌گذاری، زیاد می‌شود (۱۷ و ۳۰)؛ در تخمدان جوجه‌ها نیز ارتباط مشابهی بین شروع تخم‌گذاری و افزایش سطح PPARγ گزارش شده است (۲۶). مهار PPARγ در تخمدان موش موجب کاهش در باروری شده است. این کاهش باروی ناشی از نقص در ترشح پروژسترون توسط جسم زرد بود (۷)؛ بنابراین به نظر می‌رسد PPARγ نقشی کلیدی در تنظیم باروری دارد. نتایج ما نیز این مطلب را در مرغان مادر گوشتی تأیید می‌کند.

عوامل متابولیکی سلول مانند گلوکز، انسولین یا لپتین در سطوح مختلف محور هیپوتالاموس- هیپوفیز- گناد برای تنظیم باروری دخالت دارند. گزارش‌هایی وجود دارد مبنی بر اینکه فاکتورهای متابولیکی مذکور می‌توانند تحت تأثیر فعالیت گیرنده PPARγ قرار گیرند (۱۳ و ۲۲). این گیرنده رونوشت برداری و یا فعالیت تنظیم‌کننده‌های کلیدی مختلف را کنترل می‌کند (۹)؛ همچنین گیرنده یاد شده می‌تواند بیان ژن‌هایی همچون سیکلواکسیژناز و نیتریک اکساید را کاهش دهد (۱۸ و ۱۹). ثابت شده است که مصرف زیاد غذا منجر به تولید بیش از حد نیتریک اکساید در سلول‌های گرانولوزا مرغان تخم‌گذار می‌شود (۲۷). بنابراین احتمالاً افزایش نیتریک اکساید گزارش شده ناشی از کاهش بیان PPARγ باشد، که در این پژوهش ما بیان شده است. به نظر می‌رسد این عوامل با هم در فولیکولوژنز، تخمک‌گذاری و باروری اختلال ایجاد می‌کنند.

پژوهش‌های قبلی نشان دادند که عمل تولیدمثلی PPARα و PPARβ/δ بسیار محدودتر از PPARγ بوده‌است به طوری که موش‌های فاقد گیرنده‌های PPARα و PPARβ/δ زنده مانده و باروری خود را حفظ کرده‌اند، اگرچه اختلالات خفیف تولیدمثلی در آن‌ها مشاهده شده است (۱۶ و ۲۱). به هر حال بیان اولیه‌ای

www.SID.ir

Archive of SID

گیرنده‌ها در بافت تکا و استرومای تخمدان تائید شده است (۳ و ۲۱). در مطالعه حاضر نیز نه تنها حضور این گیرنده‌ها در سلول‌های گرانولوزای مرغان تخم‌گذار تأیید شد، بلکه نشان داده شد که میزان بیان این ژن‌ها هماهنگ با افت تولید تخم و یا مقادیر مختلف مصرف غذا تغییر نمی‌کند.

این مطالعه نشان داد که گیرنده‌های فعال کننده تکثیر پروکسیزومی در فولیکول F1 مرغان مادر گوشتی بیان می‌شوند و افزایش مصرف غذا منجر به افت تولید تخم و نقص در بیان ژن PPARγ می‌شود در حالی که بیان ژنی PPARα و PPARβ/δ را تغییر نمی‌دهد. بنابراین، به نظر می‌رسد کاهش سطح mRNA ژن PPARγ در فولیکول F1 مرغان مادر گوشتی گواهی بر دخالت این گیرنده در اختلالات متابولیکی باشد.

قدردانی و تشکر

این پژوهش با حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه شهرکرد به صورت پایان نامه دانشجویی به انجام رسید.

منابع

1- Ahmadipour, B; Hassanpour, H; Asadi, E; Khajali, F; Rafiei, F. and Khajali, F; Kelussia odoratissima Mozzaf- A promising medicinal herb to prevent pulmonary hypertension in broiler chickens reared at high altitude. J Ethnopharmacol; 2015; 159: 49-54.

2- Arbor Acres. Breeder management guide. Aviagen; 2006; 48-55.

3- Barak, Y; Liao, D; He, W; Ong, E; Nelson, M; Olefsky, J; Boland, R. and Evans, R; Effects of peroxisome proliferator-activated receptor delta on placentation, adiposity, and colorectal cancer. PNAS; 2002; 99: 303-308.

4- Barbato, G.F; Genetic control of food intake in chickens. J. Nutr; 1994; 124: 1341S-1348S.

5- Cassy, S; Metayer, S; Crochet, S; Rideau, N; Collin, A. and Tesseraud, S; Leptin receptor in the chicken ovary: potential involvement in ovarian dysfunction of ad libitum-fed broiler breeder hens. Reprod Biol Endocrinol; 2004; 2: 72.

6- Chen, S.E; McMurtry, J.P. and Walzem, R.L; Overfeeding-induced ovarian dysfunction in broiler breeder hens is associated with lipotoxicity. Poult Sci; 2006; 85: 70-81.

7- Cui, Y; Miyoshi, K; Claudio, E; Siebenlist, U. K; Gonzalez, F.J; Flaws, J; Wagner, K.U. and Hennighausen, L; Loss of the peroxisome proliferation-activated receptor gamma (PPARγ) does not affect mammary development and propensity for tumor formation but leads to reduced fertility. J Biol Chem; 2002; 277: 17830-17835.

8- Debril, M; Renaud, J; Fajas, L. and Auwerx, J; The pleiotropic functions of peroxisome proliferator-activated

www.SID.ir

Archive of SID

receptor gamma. J Mol Med; 2001; 79: 30-47.

9- Desvergne, B. and Wahli, W; Peroxisome proliferator-activated receptors: nuclear control of metabolism 1. Endocr Rev; 1999; 20: 649-688.

10- Dorak, M; Real Time PCR. Taylor & Francis, Oxford, UK. 2006.

11- Douard, V; Hermier, D; Magistrini, M. and Blesbois, E; Reproductive period affects lipid composition and quality of fresh and stored spermatozoa in turkeys. Theriogenology; 2003; 59: 753-764.

12- Froment, P; Fabre, S.P; Dupont, J.L; Pisselet, C; Chesneau, D; Staels, B. and Monget, P; Expression and functional role of peroxisome proliferator-activated receptor-γ in ovarian folliculogenesis in the sheep. Biol Reprod; 2003; 69: 1665-1674.

13- Froment, P; Gizard, F; Defever, D; Staels, B; Dupont, J. and Monget, P; Peroxisome proliferator-activated receptors in reproductive tissues: from gametogenesis to parturition. J Endocrinol; 2006; 189: 199-209.

14- Griffin, H.D. and Goddard, C; Rapidly growing broiler (meat-type) chickens. Their origin and use for comparative studies of the regulation of growth. Inter J Biochem; 1994; 26: 19-28.

15- Heck, A; Onagbesan, O; Tona, K; Metayer, S; Putterflam, J; Jego, Y; Trevidy, J.J; Decuypere, E; Williams, J. and Picard, M; Effects of ad libitum feeding on performance of different strains of broiler breeders. Brit Poult Sci; 2004; 45: 695-703.

16- Lee, S.S; Pineau, T; Drago, J; Lee, E.J; Owens, J.W; Kroetz, D.L; Fernandez-Salguero, P.M; Westphal, H. and Gonzalez, F.J; Targeted disruption of the alpha isoform of the peroxisome proliferator-activated receptor gene in mice results in abolishment of the pleiotropic effects of peroxisome proliferators. Mol Cel Biol; 1995; 15: 3012-3022.

17- Lohrke, B; Viergutz, T; Shahi, S.K; Pohland, R; Wollenhaupt, K; Goldammer, T; Walzel, H. and Kanitz, W; Detection and functional characterisation of the transcription factor peroxisome proliferator-activated receptor gamma in lutein cells. J Endocrinol; 1998; 159: 429-439.

18- Mendez, M. and LaPointe, M.C; PPARγ inhibition of cyclooxygenase-2, PGE2 synthase, and inducible nitric oxide synthase in cardiac myocytes. Hypertension;

www.SID.ir

Archive of SID

M.W; Fasenko, G.M. and Hardin, R.T; The relationship between body weight and reproductive efficiency in meat-type chickens. Poult Sci; 1993; 72: 912-922.

25- Ruijter, J.M; Ramakers, C; Hoogaars, W.M.H; Karlen, Y; Bakker, O; Van den Hoff, M.J.B. and Moorman, A.F.M; Amplification efficiency: linking baseline and bias in the analysis of quantitative PCR data. Nucleic Acids Res; 2009; 37: e45-e45.

26- Sato, K; Fukao, K; Seki, Y. and Akiba, Y; Expression of the chicken peroxisome proliferator-activated receptor-Y gene is influenced by aging, nutrition, and agonist administration. Poult Sci; 2004; 83: 1342-1347.

27- Sheikh Ahmadi, A; Zaghari, M; Shivazad, M; Hassanpour, H. and Towhidi, A; Increased iNOS gene expression in the granulosa layer of F1 follicle of over-fed and under-fed broiler breeder hens. Braz J Poultry Sci; 2010; 12: 239-245.

28- Sorensen, H; Treuter, E. and Gustafsson, J; Regulation of peroxisome proliferator-activated receptors. Vitam Horm; 1998; 54: 121-166.

29- Staels, B; and Fruchart, J; 2003; 42: 844-850.

19- Minge, C.E; Ryan, N.K; Van Der Hoek, K.H; Robker, R.L. and Norman, R.J; Troglitazone regulates peroxisome proliferator-activated receptors and inducible nitric oxide synthase in murine ovarian macrophages. Biol Reprod; 2006; 74: 153-160.

20- NRC. Nutrient Requirements for Poultry, Ninth Revised Edition. Washington, DC. 1994.

21- Peters, J; Lee, S; Li, W; Ward, J; Gavrilova, O; Everett, C; Reitman, M; Hudson, L. and Gonzalez, F; Growth, adipose, brain, and skin alterations resulting from targeted disruption of the mouse peroxisome proliferator-activated receptor beta (delta). Mol Cel Biol; 2000; 20: 5119-5128.

22- Poretsky, L; Cataldo, N.A; Rosenwaks, Z. and Giudice, L.C; The insulin-related ovarian regulatory system in health and disease. Endocr Rev; 1999; 20: 535-582.

23- Renema, R.A. and Robinson, F.E; Defining normal: comparison of feed restriction and full feeding of female broiler breeders. World's Poult Sci J; 2004; 60: 508-522.

24- Robinson, F.E; Wilson, J.L; Yu,

www.SID.ir

Archive of SID

Therapeutic roles of peroxisome proliferator-activated receptor agonists. Diabetes; 2005; 54: 2460-2470.

30- Viergutz, T; Loehrke, B; Poehland, R; Becker, F. and Kanitz, W; Relationship between different stages of the corpus luteum and the expression of the peroxisome proliferator-activated receptor gamma protein in bovine large lutein cells. J Reprod Fertil; 2000; 118: 153-161.

31- Yu, M.W; Robinson, F.E; Charles, R.G. and Weingardt, R; Effect of feed allowance during rearing and breeding on female broiler breeders. 2. Ovarian morphology and production. Poult Sci; 1992; 71: 1750-1761.

www.SID.ir

Archive of SID

Effect of food intake on the gene expression of peroxisome proliferator-activated receptors in F1 follicle of broiler breeder hens

Hassanpour, H.[1,2*]; Tavangarrad, N.[3]; Sheikh Ahmadi, A.[4]; Kadivar, A.[5]

1. Professor, Department of Bsic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord University, Shahrekord- Iran.
2. Research Institute of Animal Embryo Technology, Shahrekord University, Shahrekord, Iran.
3. D.V.M., Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord University, Shahrekord, Iran.
4. Assistant Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Kurdistan, Sanandaj, Iran.
5. Assistant Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Kurdistan, Sanandaj, Iran.

Recieved: Recieved: 12 October 2015 ***Accepted:*** 18 November 2015

Summary

To investigate the involvement of peroxisome proliferator-activated receptors (PPARα, PPARβ/δ and PPARγ) in the reduced egg production of broiler breeder hens with unfit food intake, gene expression of these receptors was evaluated in the granulosa cells of F1 follicle by quantitative real time PCR. Hens (30 weeks old) were allocated to three different levels of feed intake (FI): Control, FI-20% (20% less than control feed intake) and FI+40% (40% more than control feed intake). These hens were maintained for 30 days with three replicates per group (10 birds / replicate; 30 birds / group). The egg production significantly decreased in two treated groups as compared to control ($p<0.05$). The gene expression of PPARγ was lower in the F1 follicles of FI+40% group than control and FI-20% groups ($p<0.05$). The transcripts of PPARα and PPARβ/δ genes in the F1 follicles were not significantly changed between different groups. It is concluded that increase of food intake causes drop of egg production and diminishes gene expression of PPARγ in F1 follicle while don't change expression of PPARα and PPARβ/δ isoforms. Decreased mRNA level of PPARγ in F1 follicles of broiler breeder hens is the evidence of involvement of this receptor in the disorders due to high food intake.

Keywords: PPAR, Granulosa cells, Food intake, Broiler breeder hen.

* Corresponding Author E-mail: Hassanpour-h@vet.sku.ac.ir

www.SID.ir