

اثر تزریق داخل بطن مغزی آگونیسیت و آنتاگونیسیت گیرنده CB₁ بر مصرف دان در جوجه خروس های 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 اندوکانبینوئید نقش مهمی در تنظیم اشتها پستانداران بر عهده دارد. در این مطالعه نقش گیرنده های CB₁ دستگاه عصبی پرندگان در کنترل اشتها مورد بررسی قرار گرفت. به این منظور آگونیسیت گیرنده های CB₁ (ACEA) و آنتاگونیسیت گیرنده های 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 اندازه گیری گردید. نتایج این بررسی نشان داد می دهد که آگونیسیت و آنتاگونیسیت گیرنده های CB₁ به ترتیب سبب افزایش و کاهش مصرف دان می شوند. همچنین پیش تزریق آنتاگونیسیت CB₁ اثر افزایش اشتها آگونیسیت CB₁ را کاملاً مهار کرد. نتایج این بررسی با نتایج حاصل از آزمایشات انجام گرفته روی پستانداران مطابقت دارد.

واژه های کلیدی: گیرنده CB₁، جوجه گوشتی، اخذ غذا.

انسولین، آدیپونکتین و لپتین به مراکز مغزی مانند هیپوتالاموس و تنه ی مغز برده شده و در آنجا این سیگنال ها با هم تلفیق شده و به این ترتیب میزان مصرف انرژی و مصرف غذا تنظیم می شود (۱۹).

اخیراً مطالعات زیادی در زمینه نقش سیستم اندوکانبینوئید در کنترل اشتها صورت گرفته است. سیستم اندوکانبینوئید شامل گروهی از ترکیبات چربی دوست مانند آناندامید و ۲-AG و گیرنده های آن ها می باشد که در کنترل اشتها، کاهش درد و فرایندهای حافظه نقش دارند. گیرنده های کانابینوئید شامل گیرنده های CB₁ و CB₂ می باشند. گیرنده های CB₁ عمدتاً در دستگاه عصبی قرار دارند در حالی که گیرنده های CB₂ بیشتر در دستگاه ایمنی مشاهده می شوند (۹).

تاکنون بیشتر مطالعات در زمینه نقش اندوکانبینوئیدها در کنترل زخغ غذا در پستانداران انجام گرفته است و اطلاعات کمی در مورد نقش این نوروترانسمیترها در کنترل زخغ غذای پرندگان وجود دارد. در این مطالعه اثرات تزریق داخل بطن مغزی آگونیسیت و آنتاگونیسیت گیرنده CB₁ بر اخذ غذا در جوجه خروس های 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. جوجه ها 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 جوجه ها در سن چهار هفتگی به وزن ۷۰۰ تا ۷۵۰ رسیدند به آزمایشگاه فیزیولوژی منتقل شده و تحت عمل جراحی آسپتیک قرار گرفتند. ابتدا

مقدمه

تنظیم دریافت غذا شامل مجموعه ای از سازوکارهای فیزیولوژیک می باشد که بوسیله بخش های مختلف دستگاه عصبی مرکزی و محیطی و با استفاده از پیام های رسیده از قسمت های مختلف بدن مانند دستگاه گوارش، کبد و بافت چربی انجام می گیرد. در گردش خون هم هورمون هایی وجود دارند که با تعادل انرژی بدن در ارتباط می باشند. این پیام ها در مغز با هم تلفیق می گردند و میزان مصرف انرژی و مصرف غذا را تنظیم می کنند (۱۹). به لحاظ آن که مراکز عصبی تنظیم دریافت غذا در پستانداران در بخش های پایین مغز قرار گرفته اند لذا به نظر می رسد که اساس سازوکارهای تنظیم اشتها در پستانداران و پرندگان با یکدیگر مشابه باشد.

انتخاب ژنتیکی جهت افزایش وزن بدن منجر به تغییر مکانیسم های تنظیم اشتها در طیور گوشتی شده است. غلبه سیستم پاراسمپاتیک بر سیستم سمپاتیک یکی از مهم ترین تغییرات می باشد که نتیجه آن به صورت کاهش تحرک افزایش اشتها و افزایش سرعت رشد نمایان شده است (۷). تاکنون مطالعات زیادی پیرامون مکانیسم های فیزیولوژیک مصرف غذا در پرندگان و پستانداران انجام گرفته است. این بررسی ها با استفاده از تزریق داخل بطن مغزی و تزریق درون هسته ای میانجی های عصبی انجام گرفته است. در این بررسی ها مشخص شده است که بسیاری از قسمت های مغز در کنترل اشتها نقش دارند مهم ترین مراکز که بر روی اخذ غذا تأثیر می گذارند عبارتند از هسته هیپوتالاموس جانبی هسته هیپوتالاموس شکمی میانی هسته های پارابراکیال آمیگدال و هسته کمانی. سیگنال های محیطی مربوط به دریافت غذا مانند گرلین،



جدول ۲- 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).

زمان	۱۵	۳۰	۶۰	۱۲۰	۱۸۰	گروه
AM281 (۰/۵ mM)	۱۱±۳/۱۳	۱۸±۱/۲۰	۲۴±۴/۷۰	۳۰±۴/۷۳	۳۵±۲/۴۰	
ACEA (۱ mM)	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	

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).

زمان	۱۵	۳۰	۶۰	۱۲۰	۱۸۰	گروه
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	

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 بلود و 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 معنی داری 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 (AM281) CB1 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 معنی داری در افزایش داد. در حالی که تزریق همین دارو با غلظت ۱۰۰ uM تنها در زمان‌های ۱۵ و ۳۰ اخذ غذا را افزایش داد. آنتاگونیست گیرنده (AM281) CB1 به مقدار ۲ mM در دقایق ۱۵، ۳۰، ۶۰ و ۱۲۰ پس از تزریق موجب کاهش معنی داری در اخذ غذا شد. اما در دقیقه ۱۸۰ تفاوت معنی داری در اخذ غذا بین گروه‌های آزمایش مشاهده نگردید. پیش تزریق آنتاگونیست CB1 توانست اثر افزایش‌دهنده اشتها را CB1 را

پره‌های روی سر پرنده تراشیده شده و سپس به ازاء هر کیلو گرم وزن بدن میزان ۲۵ میلی‌گرم ماده بیهوشی پنتوباریتون سدیم از طریق روش داخل وریدی تجویز شده و بلافاصله پس از بیهوشی، سر پرنده در دستگاه استریو تاکس (Storing USA) با زاویه ۴۵ درجه تثبیت شده و با بتادین ضد عفونی 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 به عنوان نقطه صفر در نظر گرفته شد و محل کانول گذاری در مختصات AP: 6.7mm (قدامی - خلفی) L: 0.7 (جانبی) علامت گذاری شد. سپس سوراخی به قطر تقریبی دو میلی‌متر با استفاده از مته برفی دندان پزشکی 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 (Denbow 1981). آنگاه کانول با آکریل و سیمان دندان پزشکی ثابت گردید. پس از سفت شدن سیمان اطراف کانول برای جلوگیری از ورود عوامل عفونی به داخل بطن‌ها از یک در پوش کانول که از سیم ارتوندسی 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 (۱۰۰ uM) و مقدار موثر AM281 ۲ میلی‌مول (۲ mM) 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



کاهش نداد. علت این تفاوت ممکن است کم بودن غلظت آنتاگونیسیت باشد. لذا بهتر است در مطالعات بعدی از محلول های دارای غلظت بالاتر آنتاگونیسیت استفاده شود.

به طور خلاصه، نتایج این مطالعه نشان می دهد در پرندگان، همانند پستانداران سیستم اندوکانابینوئید نقش مهمی در کنترل اخذ غذا برعهده دارد. علاوه بر این از آن جا که پیش تزریق آنتاگونیسیت CB₁ سبب مهار اثر افزایشده اشتها ی آگونیسیت CB₁ گردید می توان این گونه استنباط کرد که سیستم کانابینوئید اثرات افزایشده اشتها ی خود را از طریق گیرنده های CB₁ اعمال می کند.

جدول ۳- میانگین اخذ غذای تجمعی پس از تزریق هم زمان آگونیسیت و آنتاگونیسیت گیرنده CB₁ در زمان های مختلف (دقیقه) (mean±SEM) نشان دهنده تفاوت معنی دار با گروه کنترل (p<0.05).

گروه	زمان	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 زمان ها مهار نماید.

بحث

در سال های اخیر تحقیقات زیادی در مورد اثرات اندوکانابینوئیدها روی اشتها انجام شده است. این مطالعات نشان داده است که آگونیسیت های گیرنده های کانابینوئیدی نقش مهمی در تنظیم اشتها بر عهده دارند (۳،۴،۱۰). همچنین مطالعات انجام شده در این زمینه نشان داد که آنتاگونیسیت گیرنده های CB₁ (SR1414716) می تواند به عنوان یک داروی کاهشده اشتها در درمان چاقی مورد استفاده قرار گیرد (۲). از آنجا که (SR1414716) علاوه بر مهار گیرنده CB₁ می تواند گیرنده های CB₂ را نیز مهار نماید لذا در مطالعه حاضر از AM281 به عنوان آنتاگونیسیت انتخابی CB₁ استفاده گردید.

تحقیقات انجام گرفته در موش صحرایی نشان دهنده این مطلب است که تزریق داخل بطن مغزی آگونیسیت های گیرنده CB₁ مصرف غذا را افزایش می دهد (۱۱). در حالی که تزریق داخل بطن مغزی آنتاگونیسیت (AM281) سبب کاهش معنی دار مصرف غذا گردید (۱۸). سایر آنتاگونیسیت های گیرنده CB₁ نیز اثرات مشابه داشتند. حتی یک دز تزریق تزریق داخل وریدی آنتاگونیسیت (AM251) سبب کاهش اشتها به مدت ۶ روز شد (۱).

در مطالعه حاضر تزریق آگونیسیت انتخابی گیرنده های (ACEA) CB₁ مصرف دان را در جوجه خروس های گوشتی افزایش داد. لذا نتایج این مطالعه مشابه نتایج مطالعات انجام شده در موش صحرایی می باشد.

همچنین تزریق داخل بطن مغزی آنتاگونیسیت CB₂ (AM281) سبب کاهش معنی دار مصرف دان در جوجه خروس های 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 زمان ها

References

- Chambers, A. P., Koopmans, H., Pittman, K. (2006) AM 251 produces sustained reductions in food intake and body weight that are resistant to tolerance and conditioned taste aversion. *Br. J. Pharmacol.* 147: 109-116.
- Clombo, J., Agabio, R., Diaz, G. (1998) Appetite suppression and weight loss after the cannabinoid antagonist SR141716A. *Life sci.* 63: 113-117.
- 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.
- David, B., Gareth, P., Gavin, G., Thompson, J. (2003) The therapeutic potential of cannabis. *lancet Neurol.* 2: 291-298.
- Denbow, D.M. (1989) Peripheral and central control of food intake. *Poult. Sci.* 68: 938-947.
- Daniela, C., Giovanni, M., Matthias, T. (2003) The endogenous cannabinoid system affects energy balance via central orexigenic drive and peripheral



- lipogenesis. *J. Clin. Invest.* 112: 423-431.
7. Denbow, D.M. (1999) Food intake regulation 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-Trillou, C., Arnone, M., Deleorge, 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. *Psychopharmacology.* 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.



THE EFFECT OF INTRACEREBROVENTRICULAR INJECTION OF CB₁ 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 CB₁ receptor on food intake of broilers was studied. ACEA, a potent CB₁ agonist, and AM281, a potent CB₁ 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 CB₁ agonist and antagonist increase and decrease food intake, respectively. Also, pretreatment with CB₁ antagonist fully inhibits the CB₁-agonist-induced food-intake. The results of the study is consistent with the experiments carried out in mammals.

Key words: CB₁ receptor, broiler, food intake.

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

