



تولیدات دامی

دوره ۲۱ ■ شماره ۲ ■ تابستان ۱۳۹۸

صفحه‌های ۱۹۳-۲۰۷

ارزیابی نقش عوامل مادری در کنترل نرخ متابولیسم و بیان ژن‌های *NPY* و *AMPK* در مرغان

گوشتی راس ۳۰۸

مهدي وفاي واله^{۱*}، ناهيد کریمی زندی^۲، مهديه نجم الدينی^۲

۱. دانشيار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران.

۲. دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران.

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۸/۰۳/۲۱

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۷/۱۲/۱۵

چکیده

در این پژوهش، اثر تزریق زرده تخم مرغ نژاد بومی خزک به تخم مرغ سویه تجاری راس ۳۰۸ در زمان قبل از انکوباسیون بر برخی پارامترهای مرتبط با نرخ متابولیسم در نتاج بررسی شد. پارامترهای مورد بررسی شامل میزان مصرف خوراک، ضریب تبدیل، برخی شاخص‌های بیوشیمیایی سرم، غلظت مالون‌دی‌آلدئید و نیز بیان نسبی ژن‌های AMP-activated protein kinase (AMPK) و Neuropeptide Y (NPY) در بافت مغز نتاج بود. به این منظور تعداد ۳۲۰ تخم مرغ بارور سویه راس ۳۰۸ به‌طور مساوی در قالب طرح کاملاً تصادفی به دو گروه آزمایشی شامل گروه آزمون (تزریق زرده تخم مرغ نژاد بومی خزک به زرده تخم مرغ راس) و گروه کنترل اختصاص داده شدند. نمونه‌های خون و بافت پرندگان در پایان دوره آزمایش جمع‌آوری و برای پارامترهای مذکور بررسی شدند. در مقایسه با گروه کنترل، تزریق زرده تخم مرغ نژاد بومی خزک سبب بهبود ضریب تبدیل غذایی، کاهش غلظت سرمی تری‌گلیسیرید، کاهش نسبت تری‌گلیسیرید به لیپوپروتئین با چگالی بالا، کاهش وزن نسبی چربی احشایی و نیز کاهش میزان بیان AMPK در بافت مغز نتاج شد ($P < 0.05$). در مقابل تزریق زرده تخم مرغ نژاد بومی خزک تأثیری روی وزن بدن در سن ۴۵ روزگی، میزان خوراک مصرفی، وزن نسبی مغز، غلظت سرمی گلوکز، کلسترول، لیپو پروتئین با چگالی پایین، غلظت مالون‌دی‌آلدئید و بیان NPY در بافت مغز نتاج نداشت. بر اساس نتایج این پژوهش، تزریق زرده تخم مرغ‌های نژاد بومی خزک به زرده تخم مرغ‌های سویه تجاری راس ۳۰۸ به‌طور مؤثری سبب بهبود ضریب تبدیل غذایی و کاهش میزان بیان AMPK در بافت مغز میانجی نتاج شد.

کلیدواژه‌ها: اکسیداسیون چربی، چربی احشایی، مصرف خوراک، مغز میانجی، نسبت تری‌گلیسیرید به کلسترول لیپوپروتئین با چگالی بالا.

مقدمه

انتخاب برای رشد در نسل‌های متوالی سبب افزایش میزان مصرف خوراک و تغییر در موازنه انرژی در جوجه‌های گوشتی شده است. بر این اساس در سویه‌های مدرن جوجه‌های اصلاح نژادشده سازوکارهای مؤثر در کنترل مصرف خوراک تا حدود زیادی دچار اختلال شده است، به طوری که میزان مصرف خوراک تناسبی با میزان انرژی مورد نیاز نداشته و انرژی مازاد عمدتاً به صورت چربی احشایی ذخیره می‌شود. افزایش چربی در لاشه، نه تنها سبب افزایش احتمال وقوع بیماری‌های متابولیکی می‌شود، بلکه سبب افزایش میزان هدرروی منابع انرژی به صورت چربی می‌شود. بر این اساس اگرچه استراتژی‌هایی نظیر اعمال محدودیت غذایی به منظور جلوگیری از مصرف بیش از حد غذا و نیز تجمع بیش از حد چربی احشایی پیشنهاد شده است، اما شناسایی عوامل و سازوکارهای مؤثر در کنترل مصرف خوراک از اهمیت بالایی برخوردار می‌باشد [۱۸، ۱۹].

تنظیم مصرف خوراک و تعادل انرژی تابعی از ساختار ژنتیکی، عوامل محیطی (نظیر فراهمی خوراک، فتوپریود و دمای محیط) و نیز پیام‌رسان‌های فیزیولوژیکی (رادیکال‌های آزاد، سطوح هورمون‌ها، سطوح متابولیت‌ها و نیز آدیپوکین‌ها) می‌باشد. بر این اساس نشان داده شده است که بخش‌های مختلف مغز و به‌طور خاص ناحیه مغز میانجی (Diencephalon) نقش کلیدی در پردازش این پیام‌ها و کنترل الگوی مصرف خوراک دارند [۱۵، ۱۶، ۲۰، ۲۱]. در این بین طیف گسترده‌ای از واسطه‌های عصبی و یا آنزیم‌ها شناسایی شده‌اند که نقش مؤثری در کنترل هموستازی در بدن دارند؛ که در بین آنها نتایج مطالعات دلالت بر اهمیت بالای آنزیم AMPK و نوروپپتید Y (NPY) در کنترل بالانس انرژی در بدن دارد [۱۵، ۱۶].

آنزیم AMPK از جمله آنزیم‌هایی است که نقش

کلیدی در کنترل وضعیت هموستازی انرژی در بدن به واسطه تقویت و یا ممانعت از عملکرد برخی از مسیرهای پیام‌رسانی درون سلولی در پاسخ به پیام‌های محیطی ایفا می‌کند. این آنزیم به‌طور خاص پیش‌گر وضعیت انرژی سلول می‌باشد و به‌نگام افزایش نسبت AMP/ATP و یا ADP/ATP در سلول فعال می‌شود. استرس‌های متابولیکی نیز از جمله عوامل مؤثر در فعالسازی و فسفریلاسیون AMPK می‌باشند. در این رابطه نشان داده شده است که فعالسازی AMPK در هیپوتالاموس نقشی مؤثر در القای سازوکارهای تحریک مصرف خوراک به واسطه تنظیم بیان نوروپپتیدهای مؤثر در کنترل مصرف خوراک نظیر NPY و پروتئین وابسته به آگوتی (AgRP) دارد [۱۵، ۲۰]. اختلال در فعالیت AMPK همچنین سبب بروز تغییر در میزان اکسیداسیون چربی‌ها و نیز افزایش میزان هاپیرتروفی آدیپوسیت‌ها می‌شود؛ که این تغییرات نهایتاً می‌توانند منجر به بروز پاسخ‌های التهابی و نیز مقاومت به انسولین شوند [۱۵، ۱۶].

ژن کدکننده NPY، یک میانجی عصبی با ساختار پپتیدی است که نورون‌های مولد آن عمدتاً در هسته‌های آراکوت و پاراونتریکولار هیپوتالاموس یافت می‌شوند؛ و نقش کلیدی در کنترل مصرف خوراک و نیز کنترل هموستازی انرژی در بدن دارد. نشان داده شده است که تزریق NPY به هسته‌های پاراونتریکولار هیپوتالاموس سبب افزایش میزان فعالیت نورون‌های این ناحیه و نیز کاهش میزان گرمزایی (Thermogenesis) بافت چربی قهوه‌ای می‌شود. در مقابل، پژوهش‌گران گزارش کردند که غیرفعالسازی ژن NPY نه تنها منجر به افزایش میزان مصرف انرژی (افزایش مصرف اکسیژن)، افزایش بیان پروتئین غیرجفت‌کننده یک (UCP-1) در بافت چربی قهوه‌ای و افزایش میزان ترموژنسیس در بافت چربی سفید موش به‌هنگام مواجهه با استرس سرمایی می‌شود؛ بلکه این دسته از موش‌ها به چاقی ناشی از مصرف زیاد

تولیدات دامی

مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی اثر ترکیبات زرده تخم‌مرغ نژاد بومی خزک بر روند تکوین سازوکارهای مؤثر در مصرف خوراک و متابولیسم مواد مغذی در مرغان سویه راس ۳۰۸، تعداد ۳۲۰ عدد تخم‌مرغ بارور سویه راس ۳۰۸، تهیه شده از گله مادر (شرکت مرغ مادر جنوب خراسان- بیرجند) با متوسط سن ۳۸-۳۶ هفتگی، به‌طور مساوی در قالب طرح کاملاً تصادفی به دو گروه آزمایشی؛ شامل گروه کنترل (شامل ۱۶۰ تخم‌مرغ سویه راس تیمار شده با تزریق زرده رقیق شده سویه راس) و گروه آزمون (شامل ۱۶۰ تخم‌مرغ سویه راس تیمار شده با تزریق زرده رقیق شده نژاد خزک) اختصاص داده شدند. تخم‌مرغ‌های نژاد خزک از مرکز تحقیقات جهاد کشاورزی (زاهدان) تهیه شدند. به این منظور، مقدار ۴۰۰ میکرولیتر از مخلوط زرده تخم‌مرغ‌های رقیق شده نژاد بومی خزک و یا سویه راس ۳۰۸ (مخلوط حاصل از ترکیب حداقل ۷ زرده راس و یا خزک) بر اساس پروتکل‌های رایج موجود، در روز اول قبل از انکوباسیون به کیسه زرده هر یک از تخم‌مرغ‌های اختصاص داده شده به هر یک از گروه‌های آزمون و یا کنترل تزریق شد [۱]. تزریق مخلوط رقیق شده زرده تخم‌مرغ راس ۳۰۸ به تخم‌مرغ‌های سویه خودش (سویه راس ۳۰۸) به‌منظور تعدیل تبعات آسیب‌های ناشی از تزریق و نیز تبعات حاصل از بهم خوردن نسبت زرده به سفیده بر روند تکوین جنین‌های سویه راس انجام شد [۱]. منفذ ایجاد شده به‌وسیله پارافین مذاب مسدود شد و تخم‌مرغ‌ها به دستگاه جوجه‌کشی (دستگاه جوجه‌کشی تمام اتوماتیک کرچ نوین- ایران) منتقل شدند. پس از پایان دوره جوجه‌کشی، جوجه‌های تفریخ شده یک روزه متعلق به دو گروه آزمایشی به اتاق ایزوله منتقل و در قالب گروه‌های ده‌تایی در پنج تکرار تا سن شش هفتگی در شرایط یکسان براساس دستورالعمل‌های

خوراک کمتر حساس می‌باشند [۱۶، ۲۱]. پژوهش‌گران گزارش کردند NPY در پرندگان به‌طور مشابه با پستانداران، خاصیت محرک مصرف خوراک دارد، به‌طوری‌که بیان NPY در بافت مغز طیور در پاسخ به تغییرات وضعیت انرژی بدن ناشی از محدودیت غذایی و یا گرسنگی افزایش می‌یابد [۱۸].

نتایج تحقیقات پژوهش‌گران در طی سال‌های اخیر حکایت از اهمیت شگرف اثرات فرانسلی عوامل مادری در کنترل طیف گسترده‌ای از صفات فیزیولوژیکی، مورفولوژیکی و نیز رفتاری نتاج دارند. در این رابطه نشان داده شده است که بخش عمده‌ای از اثرات مادری طیور در تنظیم و کنترل فرآیند تکوین در دوران جنینی و نیز خصوصیات رفتاری و عملکرد نتاج در دوران پس از تولد عمدتاً تحت تأثیر ترکیبات تخم‌مرغ و به‌طور خاص ترکیبات زرده تخم‌مرغ می‌باشد [۱، ۷، ۸، ۹]. با این وجود علی‌رغم اهمیت عوامل مادری در کنترل طیف گسترده‌ای از صفات شامل رفتارهای تغذیه‌ای، رشد قبل و پس از تولد، کارایی سیستم ایمنی، کنترل پاسخ‌های التهابی دستگاه گوارش و قابلیت زنده‌مانی نتاج [۱، ۸، ۹]؛ تاکنون گزارشی در خصوص اهمیت نقش عوامل مادری در کنترل سازوکارهای مؤثر در کنترل اشتها و مصرف خوراک ارائه نشده است، لذا هدف از این مطالعه بررسی تأثیر تزریق زرده تخم‌مرغ نژاد بومی خزک به زرده تخم‌مرغ سویه راس ۳۰۸ روی میزان مصرف خوراک، ضریب تبدیل، بیان نسبی ژن‌های AMPK و NPY، وزن نسبی مغز و چربی احشایی، غلظت مالون‌دی‌آلدئید (MDA) در بافت مغز، غلظت فاکتورهای بیوشیمیایی خون شامل گلوکز، کلسترول، تری‌گلیسیرید، لیپوپروتئین با چگالی بالا، لیپوپروتئین با چگالی پایین و نیز نسبت تری‌گلیسیرید به لیپوپروتئین با چگالی بالا در نتاج بود.

تولیدات دامی

کیت‌های شرکت پارس‌آزمون طبق دستورالعمل مربوط به هر کیت با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (Gold Spectrumlab 54, Shanghai, China) و یا توسط دستگاه اتوآنالایزر (Biotechnica BT-3000, Italy) اندازه‌گیری شد. LDL-C با استفاده از فرمول فریدوالد $LDL-C = TC - [HDL - (TG/5)]$ محاسبه شد [۱۱]. نسبت تری‌گلیسرید به کلسترول لیپوپروتئین با چگالی بالا به‌عنوان شاخصی برای ارزیابی سندرم متابولیک (مقاومت به انسولین) محاسبه شد [۶]. پس از کشتار، چربی محوطه شکمی و نیز چربی اطراف ارگان‌های داخلی شامل روده، سنگدان، قلب و کبد جداسازی و وزن شدند. بافت کامل مغز برای ارزیابی میزان پراکسیداسیون چربی‌های بافت مغز و نیز آنالیز بیان ژن در بافت مغز میانجی (هیپوتالاموس) پس از شکافت جمجمه جمع‌آوری و توزین شد. پس از کشتار، لاشه گرم فاقد محتویات شکم توزین و نسبت آن به وزن قبل از کشتار مورد محاسبه قرار گرفت (بازده لاشه). پس از تفکیک بخش مغز میانجی نمونه‌های حاصله برای جلوگیری از تجزیه RNA به سرعت در ازت مایع فریز و تا زمان آنالیز بیان ژن به فریزر با دمای -80°C منتقل و نگهداری شدند.

برای بررسی تأثیر تزریق زرده تخم‌مرغ نژاد خزک بر الگوی بیان نسبی ژن‌های AMPK و NPY، نمونه‌های هر تکرار به‌طور جداگانه با استفاده از نیتروژن مایع به آرامی پودر و همگن‌گردید. سپس کل RNA نمونه‌های آزمایشی بافت مغز میانجی (هیپوتالاموس) با استفاده از محلول RiboEx™ LS (GeneAll Biotechnology Co, LTD, Seoul, Korea) طبق دستورالعمل پیشنهادی استخراج شد. سنتز cDNA از نمونه‌های RNA، با استفاده از کیت Hyperscript™ One-step RT-PCR Mastermix (GeneAll, Seoul, Korea) در حجم نهایی $20\ \mu\text{L}$ انجام شد. به این منظور مقدار پنج میکرولیتر از RNA الگو، یک

پیشنهادی برای نگهداری راس ۳۰۸ پرورش یافتند. برنامه نوری برای سه روز اول پس از هج به‌صورت روشنایی دائم و برای بقیه دوره پرورش به‌صورت ۲۳ ساعت روشنایی و یک ساعت خاموشی تنظیم و اجرا شد. جیره مورد استفاده شامل خوراک استاندارد آماده بود (خوراک دام و طیور بنفش تپه- گلستان)، که برای دوره‌های سنی مختلف تنظیم و در اختیار پرندگان قرار گرفت. این جیره‌ها شامل جیره پیش‌آغازین (صفر تا هفت‌روزگی)، جیره آغازین (شامل جیره آغازین ۱ و ۲ می‌باشد: آغازین ۱ (۸ تا ۱۵ روزگی) و آغازین ۲ (۱۶ تا ۲۵ روزگی))، جیره رشد (۲۵-۳۵ روزگی) و جیره پایانی (۳۵-۴۵ روزگی) بود (جدول ۱). غذا و آب به‌صورت آزاد در طی دوره در اختیار پرندگان بود [۱]. میزان افزایش وزن بدن، مصرف خوراک و ضریب تبدیل غذایی در هفته‌های متوالی ثبت و به‌صورت دوره‌ای بیان گردید. برای بررسی میزان مصرف خوراک، تفاضل میزان خوراک فراهم‌شده و باقی‌مانده خوراک در هر واحد آزمایشی به‌صورت هفتگی ثبت گردید. برای محاسبه ضریب تبدیل غذایی، جوجه‌ها در پایان هفته به‌صورت انفرادی وزن‌کشی و مجموع افزایش وزن در هر واحد آزمایشی پس از تصحیح برای تلفات بر میزان مصرف خوراک در هر واحد آزمایشی تقسیم شد.

در پایان دوره آزمایش (۴۵ روزگی) پس از پنج ساعت گرسنگی، از هر گروه آزمایشی تعداد سه جوجه با وزن نزدیک به میانگین از هر گروه آزمایشی به‌طور تصادفی انتخاب و پس از خون‌گیری از سیاهرگ بال، برای آنالیز اجزای لاشه کشتار شدند. پس از جداسازی سرم، تا زمان تعیین فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون، نمونه‌ها در دمای -20°C درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. فراسنجه‌های بیوشیمیایی شامل غلظت سرمی گلوکز، کلسترول، تری‌گلیسرید، HDL به‌روش فتومتری به‌وسیله

تولیدات دامی

اضافه شد (حجم کل مخلوط به $20\mu\text{L}$ افزایش یافت). پس از سانتریفیوژ و ورتکس، میکروتیوب‌ها در دمای 55°C درجه برای مدت یک ساعت انکوبه شدند. پس از اتمام زمان انکوباسیون برای از بین بردن ساختارهای ثانویه باقی‌مانده تیوب‌های حاوی cDNA برای مدت پنج دقیقه در دمای 85°C درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. پس از گذشت مدت زمان یک دقیقه از پایان انکوباسیون به ترتیب مقادیر یک میکرولیتر از آنزیم ترانس‌کریپتاز معکوس ($200\text{U}/\mu\text{l}$)، یک میکرولیتر از مهارکننده RNAase، دو میکرولیتر از بافر واکنش (Reverse Transcription 10X Buffer) و دو میکرولیتر از ماده DTT (0.1M) به میکروتیوب‌های حاوی مخلوط انکوبه‌شده

میکرولیتر از مخلوط آغازگرهای Random hexamer و Oligo (dT)، یک میکرولیتر dNTPs و هفت میکرولیتر آب‌دیونیزه در یک میکروتیوب استریل مخلوط (حجم کل $14\mu\text{L}$) و برای مدت پنج دقیقه در دمای 65°C درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. پس از گذشت مدت زمان یک دقیقه از پایان انکوباسیون به ترتیب مقادیر یک میکرولیتر از آنزیم ترانس‌کریپتاز معکوس ($200\text{U}/\mu\text{l}$)، یک میکرولیتر از مهارکننده RNAase، دو میکرولیتر از بافر واکنش (Reverse Transcription 10X Buffer) و دو میکرولیتر از ماده DTT (0.1M) به میکروتیوب‌های حاوی مخلوط انکوبه‌شده

جدول ۱. انرژی قابل متابولیسم و ترکیب شیمیایی جیره

ترکیب	پیش آغازین	آغازین ۱	آغازین ۲	رشد	پایانی
انرژی قابل متابولیسمی (کیلوکالری در کیلوگرم)	۲۸۶۰	۲۸۶۵	۲۹۰۰	۲۹۳۵	۲۹۵۰-۳۰۰۰
پروتئین خام (درصد)	۲۱/۵	۲۰/۵	۱۹	۱۸	۱۷-۱۷/۵
فیبر خام (حداکثر) (درصد)	۳/۵۵	۳/۴۵	۳/۳۰	۳/۰۸	۴
کلسیم (درصد)	۱/۰۵	۱/۰۵	۱/۰۱	۰/۹۸	۰/۸۵
فسفر قابل دسترس (درصد)	۰/۵	۰/۵	۰/۴۸	۰/۴۷	۰/۴۲
سدیم (درصد)	۰/۱۷	۰/۱۷	۰/۱۶	۰/۱۶	۰/۱۶
کلر (درصد)	۰/۲۳	۰/۲۰	۰/۲۰	۰/۲۰	۰/۲۰
متیونین (درصد)	۰/۵۹	۰/۵۰	۰/۴۴	۰/۴۰	۰/۳۸
متیونین + سیستین (درصد)	۰/۹۲	۰/۸۸	۰/۸۱	۰/۷۵	۰/۶۷
لیزین (درصد)	۱/۲	۱/۱۵	۱/۰۵	۰/۹۳	۰/۸۷
آرژنین (درصد)	۱/۳۳	۱/۱۵	۱/۰۴	۰/۹۷	۰/۹۳
ترئونین (درصد)	۰/۸۲	۰/۷۱	۰/۶۴	۰/۶۰	۰/۵۷
اسید لینولئیک (درصد)	۱/۵	۱/۵	۱/۵	۱/۲	۱/۲
ماده خشک (درصد)	۸۸	۸۸	۸۸	۸۸	۸۸

جدول ۲. مشخصات آغازگرهای مورد استفاده برای تکثیر ژن‌های هدف

منبع مورد استفاده	اندازه قطعه (جفت‌باز)	شماره ثبت بانک ژن	پرایمر (3'→5')	ژن
۲۴	۱۱۸	NM_001034827	AGAGGTCCCAAAGCCTGAGTT GAAGATGCCCCAGAGCCACA	<i>AMPK</i>
۲۲	۷۳	NM_205473	AAAATCCCATCACCACATCGA TCTTGTGAGGGAAAGCACAGA	<i>NPY</i>
۱	۱۲۵	NM_205518.1	AGACATCAGGGTGTGATGGTTGGT TCCCAGTTGGTGACAATACCGTGT	<i>β-actin</i>
۱	۳۱۲	AF173612.1	GACTTGCCTCCAATGGATCCTC TAGATAACCTCGAGCCGATCGCA	<i>18S rRNA</i>

تولیدات دامی

ورتکس و سپس برای مدت سه دقیقه در دور ۳۰۰۰ سانتریفیوژ شدند. پس از دورریختن فاز بالایی باقی نمونه با استفاده از کاغذ صافی، صاف شدند. سپس مقدار ۱/۵ میلی لیتر TBA (۰/۸٪) به ۲/۵ میلی لیتر از محلول صاف شده اضافه و نمونه‌ها برای مدت ۳۰ دقیقه در بن‌ماری در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری و پس از سرد شدن به یخچال منتقل شد. میزان جذب نوری نمونه‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر (Gold Spectrumlab 54, Shanghai, China) در طول موج ۵۲۱/۵ نانومتر قرائت و مقدار مالون‌دی‌آلدئید در هر نمونه براساس (میلی‌گرم بر کیلوگرم) بر اساس منحنی استاندارد محاسبه گردید [۲].

برای بررسی نرمال بودن توزیع داده‌ها و یا چولگی توزیع داده‌ها، از آزمون Shapiro-Wilk استفاده شد. بر اساس نتایج آزمون، داده‌های کمی با توزیع نرمال به صورت میانگین (± انحراف معیار) ارائه شدند. مقایسه میانگین بین دو گروه آزمایشی به وسیله آزمون T انجام شد (رابطه ۱). حداکثر میزان احتمال خطای نوع اول ۵ درصد در نظر گرفته شد. کلیه آنالیزهای آماری با استفاده از نرم‌افزار آماری JMP (نسخه ۱۳) انجام شد.

$$Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij} \quad \text{رابطه ۱}$$

در این رابطه، Y_{ij} مقدار رکورد اندازه‌گیری شده در تکرار j ام از تیمار i ام؛ μ میانگین جامعه؛ T_i اثر تیمار تزریق زرده و e_{ij} اثرات تصادفی خطاهای آزمایشی (با توزیع نرمال) هستند.

بیان نسبی ژن‌های هدف در بافت مغز با استفاده از مسترمیکس آماده 5x Hot FIREPOL Eva Green qPCR Mix بررسی شد. اجزای واکنش شامل پرایمرهای رفت و برگشت، آب دیونیزه، cDNA و مسترمیکس به نسبت‌های معین، بر اساس دستورالعمل کیت مخلوط شدند (جدول ۳). تکثیر نواحی هدف بر اساس برنامه دمایی بهینه‌سازی شده با استفاده از دستگاه (Rotor-Gene 3000 Corbett Research, Sydney, Australia) انجام شد (جدول ۴). پس از پایان واکنش‌ها، سیکل‌های آستانه‌ای (C_T) خام مربوط به بیان ژن‌های رفرنس و هدف در نمونه‌های گروه‌های آزمون و کنترل ثبت شد. بیان نسبی ژن‌های هدف نسبت به میانگین ژنومتریک ژن‌های مرجع (18sRNA, β -actin) به روش $2^{-\Delta\Delta Ct}$ محاسبه شد [۱]. برای بررسی صحت انجام واکنش‌ها، محصولات واکنش‌های Real-Time PCR روی ژل آگارز دو درصد رنگ‌آمیزی شده با ماده فلورسانت (Gel Red) بارگذاری شد.

برای تعیین میزان مالون‌دی‌آلدئید (MDA) به عنوان شاخص میزان اکسیداسیون چربی‌ها از روش اسپکتروفوتومتری تیوباربیتریک اسید (TBA) استفاده شد. به‌طور خلاصه در این روش یک گرم بافت آسیاب شده مغز به درون فالتکون منتقل و مقدار چهار میلی‌لیتر تری‌کلرواستیک اسید (TCA-۵٪ در آب مقطر) و مقدار دو و نیم میلی‌لیتر بوتیلید هیدروکسی تولوئن (BHT-۰/۸٪ در هگزان) اضافه شد. نمونه‌ها برای مدت یک دقیقه

جدول ۳. ترکیب و نسبت مواد استفاده شده برای واکنش Real time PCR

ماده مورد استفاده	مقادیر مورد استفاده (میکرولیتر (μl))
مستمیکس (Master Mix)	۴ μl
cDNA	۱ μl
پرایمر رفت (F)	۰/۵ μl
پرایمر برگشت (R)	۰/۵ μl
آب دیونیزه (ddH ₂ O)	۱۴ μl
حجم نهایی	۲۰ μl

تولیدات دامی

جدول ۴. شرایط دمایی و زمانی واکنش Real time PCR برای تکثیر ژن‌های 18S rRNA, β -actin, NPY, AMPK

تعداد چرخه	زمان (ثانیه)	دما (سانتی‌گراد) - ژن	مراحل چرخه
۱	۹۰۰	۹۵	واسرشت اولیه
۴۵	۲۰	۹۵	واسرشت ثانویه
	۲۵	AMPK-57C ⁰	اتصال آغازگرها به الگو
	۲۵	NPY-57C ⁰	
	۲۵	β -actin-58C ⁰	
	۲۵	18sRNA-67C ⁰	
	۳۰	۷۲	طویل سازی
افزایش دما از ۵۵ درجه تا ۹۹ درجه، هر پنج ثانیه یک درجه			ترسیم منحنی ذوب

نتایج و بحث

در این مطالعه، تزریق زرده تخم مرغ نژاد خزک به طور معنی داری باعث کاهش ضریب تبدیل و وزن نسبی چربی احشایی در گروه آزمون نسبت به گروه کنترل شد (جدول ۵؛ $P < 0/05$). در مقابل تزریق زرده تخم مرغ نژاد خزک تأثیری روی وزن زنده بدن در ۴۵ روزگی، مجموع مصرف خوراک روزانه و بازدهی لاشه نداشت (جدول ۵). تأثیر عوامل مادری در کنترل فرآیند تکوین جنین و نیز طیف گسترده‌ای از صفات نظیر ریخت‌شناسی، نرخ رشد و سوخت‌وساز، تکوین عضلات، توسعه بافت چربی، خصوصیات چربی، شاخص‌های استرس‌اکسیداتیو، میزان حساسیت به انسولین و یا میزان بیان ژن‌های التهابی دستگاه گوارش نتایج در زمان پس از تولد و حتی در نسل‌های آتی در مدل‌های مختلف حیوانی و نیز در طیور گزارش شده است [۱، ۹، ۱۲، ۱۶، ۱۷]. به علاوه پژوهش‌گران گزارش کردند که دستکاری ترکیبات تخم مرغ می‌تواند اثرات بلندمدت بر روی نرخ رشد، ضریب تبدیل، سطح پارامترهای بیوشیمیایی خون، میزان تجمع چربی احشایی، کنترل بیان ژن‌های التهابی دستگاه گوارش، متابولیسم کبدی چربی‌ها، پروفایل لیپیدهای سرم و وزن نسبی ارگان‌های داخلی به واسطه تأثیر بر روی

شکل‌گیری الگوهای اپی‌ژنتیکی و نیز کنترل عملکرد سیستم‌های مختلف نظیر محورهای هیپوتالاموس-هیپوفیز-تیروئید (HPT axis)، هیپوتالاموس-هیپوفیز-سوماتوتروفیک (HPS axis)، هیپوتالاموس-هیپوفیز-غدد جنسی (HPG axis) و هیپوتالاموس-هیپوفیز-آدرنال (HPA axis) داشته باشند؛ هر چند این اثرات عمدتاً بستگی به دوز و نوع تیمار، شرایط نگهداری و نیز زمان اعمال تغییرات بستگی دارد [۹، ۱۷]. به علاوه نتایج این مطالعه با نتایج سایر پژوهش‌گران در خصوص همبستگی معنی‌دار نرخ ضریب تبدیل با میزان چربی احشایی در طیور مطابقت دارد [۲۵].

با وجود این‌که سازوکارهای مؤثر در کنترل نرخ سوخت‌وساز و ضریب تبدیل تا حدود زیادی ناشناخته هستند، اما نتایج پژوهش پژوهش‌گران دلالت بر اهمیت فاکتورهای التهابی، میزان تولید رادیکال‌های آزاد، تعادل بین پراکسیدان‌ها و آنتی‌اکسیدان‌ها، قابلیت هضم و جذب مواد مغذی، میزان ترموژنسیس، غلظت کورتیزول، نرخ کاتابولیسم و آنابولیسم و نیز ترکیب باکتری‌های دستگاه گوارش در کنترل نرخ متابولیسم و بازدهی مصرف خوراک دارند. همچنین تشدید بروز پاسخ‌های التهابی در دستگاه گوارش و نیز اندوتوکسمی سیستماتیک ناشی از اختلال

تولیدات دایمی

گروه کنترل شد ((جدول-۶)؛ ($P < 0/05$)). در مقابل تزریق زرده تخم مرغ نژاد خزک تأثیری روی غلظت سرمی لیپوپروتئین با چگالی بالا، لیپوپروتئین با چگالی پایین و کلسترول نداشت (جدول ۶).

سطوح متابولیت‌های سرمی خون (گلوکز، تری‌گلیسیرید، اسیدهای چرب آزاد، آمینواسیدها و ...) به واسطه شناسایی توسط گیرنده‌های مغزی نیز از جمله عوامل مؤثر در کنترل میزان اشتها، مصرف خوراک و نرخ سوخت و ساز می‌باشند [۱۰]. پیشنهاد شده است که انتخاب برای افزایش نرخ رشد سبب کاهش و یا عدم پاسخ‌دهی به پیام‌های سیری در مقایسه با جوجه‌های با نرخ رشد پایین می‌شود [۱۹].

در عملکرد ساختار دفاعی روده نقش مؤثری در افزایش میزان ضریب تبدیل، کاهش حساسیت به انسولین و متعاقباً اختلال در تنظیم فعالیت مسیرهای متابولیکی شامل لیپوژنز، لیپولیز، گلوکونئوژنز و نیز مکانیسم‌های مؤثر در کنترل اشتها و وزن بدن دارند [۳، ۴، ۱۶، ۱۹، ۲۰، ۲۲، ۲۳]. نقش عوامل مادری در طیور در کاهش میزان پاسخ‌های التهابی در دستگاه گوارش و یا فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدانی نتاج [۸، ۱] است که احتمالاً می‌تواند از جمله عوامل مؤثر در بهبود ضریب تبدیل باشد [۵، ۲۵]. در این مطالعه تزریق زرده تخم مرغ نژاد خزک سبب کاهش غلظت سرمی گلوکز، تری‌گلیسیرید و نیز نسبت تری‌گلیسیرید به لیپوپروتئین با چگالی بالا در مقایسه با

جدول ۵. وزن زنده، مصرف خوراک، ضریب تبدیل و صفات لاشه گروه‌های آزمایشی

P-value	گروه آزمایشی		صفات مورد اندازه‌گیری
	آزمون (تزریق خزک)	کنترل (تزریق راس)	
۰/۶۷۱	۲۲۴۳±۱۱۱	۲۲۲۷±۲۱۷	وزن زنده بدن، ۴۵ روزگی (گرم)
۰/۶۴۶	۴۴۷۵±۲۵۲	۴۵۱۵±۵۰۶	مجموع مصرف خوراک روزانه، ۱-۴۵ روزگی (گرم)
۰/۰۱۶	۲/۰۳۳±۰/۰۳۵ ^b	۲/۰۶۲±۰/۰۷۰ ^a	میانگین ضریب تبدیل خوراک، ۱-۴۵ روزگی
۰/۷۴	۷۰/۴۶۸±۱/۶۱۹	۷۰/۸۴۹±۰/۸۹۴	بازدهی لاشه (درصد)
۰/۰۱۹	۱/۸۱۱±۰/۱۰۳ ^b	۲/۰۹۶±۰/۰۷۸ ^a	وزن نسبی چربی احشایی به وزن زنده بدن (درصد)

a-b: تفاوت میانگین‌ها (± انحراف معیار) با حروف نامشابه در هر ردیف معنی‌دار است ($P < 0/05$).

جدول ۶. غلظت پارامترهای بیوشیمیایی سرم در گروه‌های آزمایشی

P-value	گروه آزمایشی		صفات مورد اندازه‌گیری
	آزمون (تزریق خزک)	کنترل (تزریق راس)	
۰/۰۵۰	۱۵/۹۳۵±۱/۰۹۱ ^b	۱۸/۰۱۹±۰/۷۰۶ ^a	گلوکز (میلی‌مول در لیتر)
۰/۷۰۳	۳/۸۰۱±۰/۹۸۲	۴/۰۳۴±۰/۰۵۱	کلسترول (میلی‌مول در لیتر)
۰/۰۲۴	۰/۹۳±۰/۲۲۰ ^b	۱/۵۴۸±۰/۱۶۶ ^a	تری‌گلیسیرید (میلی‌مول در لیتر)
۰/۹۷۸	۲/۳۱۲±۱/۰۱۹	۲/۲۹۴±۰/۰۵۸	کلسترول لیپوپروتئین با چگالی پایین (میلی‌مول در لیتر)
۰/۸۸۶	۱/۰۴۳±۰/۰۳۹	۱/۰۳۴±۰/۰۸۹	کلسترول لیپوپروتئین با چگالی بالا (میلی‌مول در لیتر)
۰/۰۳۳	۰/۹۴۲±۰/۲۰۷ ^b	۱/۵۰۶±۰/۲۲۵ ^a	نسبت تری‌گلیسیرید به کلسترول لیپوپروتئین با چگالی بالا

a-b: تفاوت میانگین‌ها (± انحراف معیار) با حروف نامشابه در هر ردیف معنی‌دار است ($P < 0/05$).

تولیدات دامی

جمله عوامل مؤثر در بروز مقاومت به انسولین و نیز افزایش معنی‌دار غلظت کلسترول کل، تری‌گلیسیرید، LDL و در برخی موارد HDL می‌باشد [۱۶]. در این مطالعه تزریق زرده تخم‌مرغ نژاد خزک تأثیری روی وزن نسبی و نیز میزان مالونیل‌دی‌آلدئید (MDA) در بافت مغز نداشت (جدول ۷).

نقش عوامل مادری و به‌طور خاص ترکیبات تخم‌مرغ در کنترل فرآیند تکوین مغز در دوران جنینی، تنظیم عملکرد بخش‌های مختلف مغز و نیز کنترل طیف گسترده‌ای از رفتارهای نتاج در دوران پس از تولد به اثبات رسیده است [۷، ۹، ۱۷]. القای فعالیت طیف گسترده‌ای از مسیرهای پیام‌رسان درون‌سلولی ناشی از چالش با لیپولی‌ساکاریدها، استرس اکسیداتیو و یا افزایش غلظت گلوکوکورتیکوئیدها از جمله عوامل مؤثر بر اندازه مغز و نیز بروز اختلال در سازوکارهای تنظیمی مصرف خوراک می‌باشند [۷، ۱۶].

یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد که تزریق زرده نژاد خزک سبب کاهش میزان بیان AMPK در بافت مغز میانجی (هیپوتالاموس) در مقایسه با گروه کنترل شد (جدول ۸، شکل B-۱؛ $P < 0.05$)، هر چند تزریق زرده تأثیری روی الگوی بیان NPY نداشت (جدول ۸، شکل A-۱).

به‌علاوه از آنجایی‌که بالابودن غلظت تری‌گلیسیرید، لیپوپروتئین کم‌چگالی (VLDL)، لیپوپروتئین با چگالی پایین (LDL) و پایین بودن غلظت لیپوپروتئین با چگالی بالا (HDL) از خصوصیات اختلالات سندرم‌های متابولیکی مرتبط با مقاومت به انسولین می‌باشد، لذا پژوهش‌گران ارزیابی نسبت تری‌گلیسیرید به کلسترول لیپوپروتئین با چگالی بالا (TG/HDL-C)، را به‌عنوان شاخص‌های کلینیکی برای ارزیابی میزان مقاومت به انسولین پیشنهاد کرده‌اند [۶]. در این راستا به‌طور خاص نتایج مطالعات پژوهش‌گران حاکی از اهمیت بالای میزان حساسیت به انسولین در سیستم اعصاب مرکزی و نیز در ارگان‌های داخلی؛ در کنترل میزان غلظت سرمی چربی، قند و نیز کنترل اشتها دارد؛ به‌طوری‌که کاهش میزان پاسخ‌دهی به انسولین در بافت‌هایی نظیر کبد، چربی و یا بافت ماهیچه‌ای؛ سبب کاهش میزان جذب گلوکز توسط ماهیچه، افزایش نرخ لیپوزنز در بافت‌های کبد و چربی، افزایش نرخ لیپولیز در بافت چربی، افزایش میزان گلوکونئوزنز و کاهش سنتز گلیکوزن کبدی و نیز افزایش میزان تولید رادیکال‌های آزاد و استرس اکسیداتیو می‌شود [۱۶، ۲۳]. چالش مزمن با گلوکوکورتیکوئیدها نیز از

جدول ۷. وزن نسبی مغز و شاخص اکسیداسیون چربی در بافت مغز در گروه‌های آزمایشی

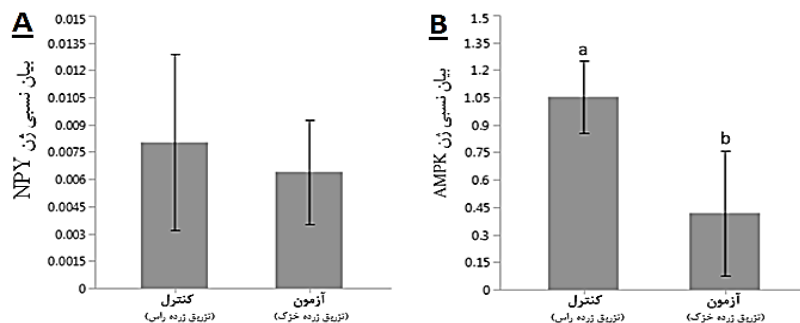
P-value	گروه آزمایشی		صفات مورد اندازه‌گیری
	آزمون (تزریق خزک)	کنترل (تزریق راس)	
۰/۳۶۸	۰/۱۱۹±۰/۰۰۲	۰/۱۱۷±۰/۰۰۴	وزن نسبی مغز به وزن زنده بدن (درصد)
۰/۸۷	۰/۰۴۴±۰/۰۱۱	۰/۰۴۲±۰/۰۰۹	غلظت مالونیل‌دی‌آلدئید در بافت مغز (میلی‌گرم در کیلوگرم)

a-b: تفاوت میانگین‌ها (± انحراف معیار) با حروف نامشابه در هر ردیف معنی‌دار است ($P < 0.05$).

جدول ۸. تأثیر تزریق زرده بر الگوی بیان نسبی ژن‌های AMPK, NPY در بافت مغز میانجی (هیپوتالاموس) جوجه‌های گوشتی

P-value	میزان بیان نسبی ژن‌های هدف ^۱		گروه آزمایشی
	NPY	AMPK	
۰/۰۰۸±۰/۰۰۵	۰/۰۰۶±۰/۰۰۳	۱/۰۵۳±۰/۱۹۹۰	کنترل (تزریق زرده راس)
		۰/۴۱۸±۰/۳۴۰۰	آزمون (تزریق زرده خزک)
۰/۶۴۳		۰/۰۴۹	

۱. میزان بیان نسبی ژن‌های هدف (AMPK, NPY) نسبت به میانگین ژنومتریک ژن‌های مرجع (18sRNA, β-actin) به روش 2^{-ΔΔCT} محاسبه شد. a-b: تفاوت میانگین‌ها (± انحراف معیار) با حروف نامشابه در هر ستون معنی‌دار است ($P < 0.05$).



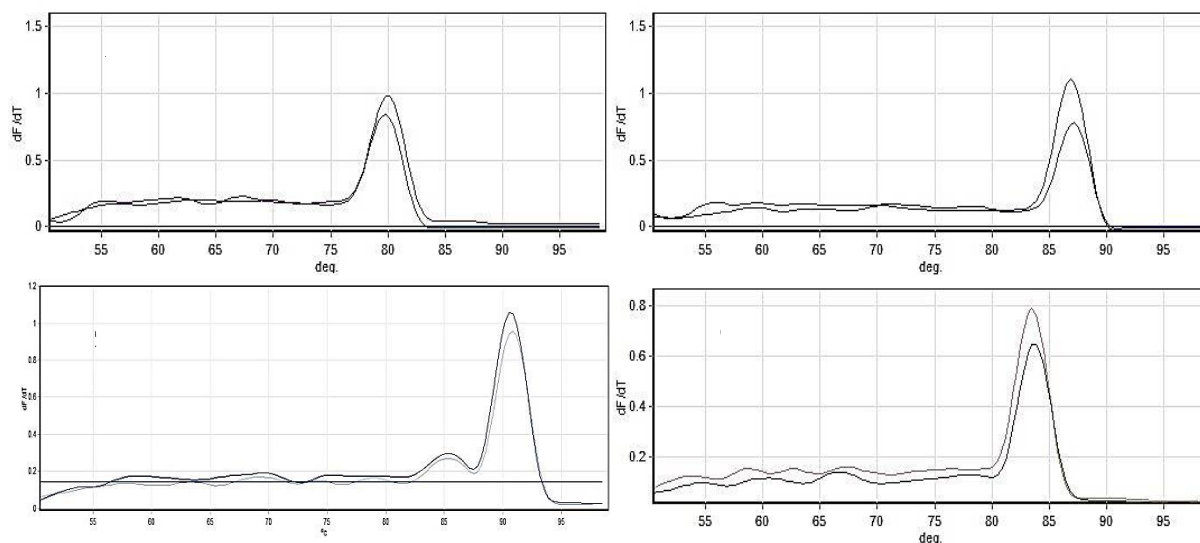
شکل ۱. بیان نسبی ژن‌های NPY(A) و AMPK(B) در بافت مغز میانجی (هیپوتالاموس) جوجه‌های گوشتی
a-b: تفاوت میانگین‌ها (\pm انحراف معیار) با حروف نامشابه بر روی هر ستون معنی دار است ($P < 0.05$).

اهمیت AMPK در کنترل پیام‌های مؤثر در مصرف خوراک، القای فعالیت AMPK در پاسخ به طیف گسترده‌ای از استرس‌ها نظیر ایسکمی، استرس اکسیداتیو، استرس‌های متابولیکی و سمیت تحریکی (Excitotoxicity)؛ نقش کلیدی در حفاظت سیستم اعصاب مرکزی در برابر آسیب‌های ناشی از این دسته از استرس‌ها دارد [۲۰].

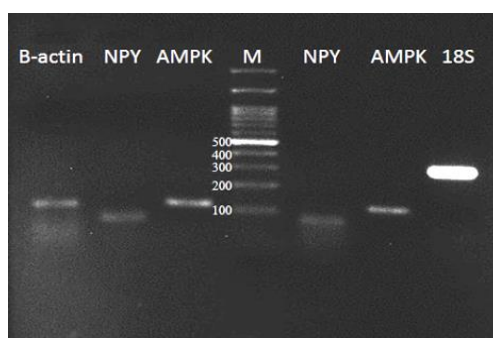
پیشنهاد شده است که تفاوت الگوی بیان ژن‌های مسیر AMPK-mTOR-ACC در هیپوتالاموس احتمالاً از عوامل مؤثر در توجه بخشی از تفاوت ضریب تبدیل غذایی و بالانس انرژی در طیور و نیز سایر حیوانات اهلی می‌باشد [۳]، به طوری که ارزیابی بیان ژن‌های مؤثر در کنترل سوخت و ساز دلالت بر کاهش میزان بیان ژن‌های NPY، TOR و ACC α ؛ و در مقابل افزایش میزان بیان ژن‌های ORXR1/2, AMPK α 1, S6K1, STAT1,5,6 در بافت هیپوتالاموس بلدرچین‌های با نرخ ضریب تبدیل غذایی بالا در مقایسه با بلدرچین‌های با ضریب تبدیل غذایی پایین داشت [۳]. به علاوه پژوهش‌گران گزارش کردند که میزان فعالیت AMPK در بافت هیپوتالاموس از جمله عوامل مؤثر در میزان مصرف انرژی (Energy expenditure) به واسطه کنترل میزان گرمایی بافت چربی قهوه‌ای (BAT) و نیز میزان تبدیل بافت چربی سفید به بافت چربی قهوه‌ای می‌باشد [۵، ۱۵].

در این پژوهش همچنین، منحنی ذوب برای کلیه ژن‌های مورد بررسی به صورت تک‌قله به دست آمد، که مؤید اختصاصی بودن واکنش‌های Real-Time PCR بود (شکل ۲). الکتروفورز محصولات واکنش‌های PCR نیز دلالت بر صحت انجام واکنش‌ها داشت (شکل ۳).

پژوهش‌گران گزارش کردند که فعالسازی ژن AMPK در پاسخ به پیام‌های محیطی، سبب تقویت مسیر سیگنال فعالیت‌های کاتابولیکی نظیر گلایکولیز، خودخواری (اتوفاژی) و اکسیداسیون اسیدهای چرب و در مقابل توقف فعالیت‌های آنابولیکی نظیر لیپوژنسیس، سنتز پروتئین و گلوکونئوژنسیس می‌شود [۱۵، ۱۶، ۲۰]. در این رابطه نشان داده شده است که عمده هورمون‌های مهارکننده مصرف خوراک نظیر لپتین، استرادیول (E2)، پپتیدشبه گلوکاگون-۱ (GLP-1) و انسولین از جمله مهم‌ترین عوامل شناخته‌شده مهارکننده فعالیت AMPK در هیپوتالاموس می‌باشند. در مقابل، اگرچه پیام‌های محرک مصرف خوراک (Orexigenic signals) نظیر هایپوگلیسمی، گلوکوکورتیکوئیدها، آدیپونکتین، گرلین، کانابینوئیدها، پروتئین وابسته به آگوتی (AgRP) عمدتاً سبب تحریک فعالیت AMPK می‌شوند، اما نشان داده شده است که هورمون رزیستین (Resistin) صرف‌نظر از اثرات ضدآشتهای آن می‌تواند سبب تحریک AMPK در هیپوتالاموس شود [۱۵، ۱۶]. صرف‌نظر از



شکل ۲. منحنی ذوب ژنهای *AMPK* (2-A), *NPY* (2-B), *18sRNA* (2-C), β -actin (2-D)



شکل ۳. الکتروفورز محصولات تکثیر شده ژنهای β -actin, *NPY*, *AMPK*, *18sRNA* روی ژل آگارز دو درصد. طول قطعه تکثیری برای محصولات بارگذاری شده در چاهک‌های شماره (۱) β -actin، (۲) *NPY*، (۳) *AMPK*، (۴) نشانگر (Marker) با اندازه قطعات ۱۰۰ جفت باز؛ (۵) *NPY*، (۶) *AMPK*، (۷) *18S* جفت باز؛ (۸) نشانگر (Marker) با اندازه قطعات ۱۰۰ جفت باز؛ (۹) *NPY*، (۱۰) *AMPK*، (۱۱) *18S* جفت باز؛ (۱۲) *rRNA*، ۳۱۲ جفت باز می‌باشد.

(Intracerebroventricular) میزان بیان *NPY* در بافت هیپوتالاموس جوجه‌های گوشتی به‌طور معنی‌داری افزایش می‌یابد [۱۳]. به‌علاوه نشان داده شده است که تزریق *NPY* به داخل مایع مغزی نخاعی (Intracerebroventricular) و یا به بافت هیپوتالاموس سبب افزایش میزان مصرف خوراک (هایپرفازی) و نیز طیف گسترده‌ای از تغییرات در فعالیت سیستم اندوکرینی شامل افزایش میزان لپتین، کورتیکوسترون و انسولین می‌شود؛ که این تغییرات در نهایت منجر به

نوروپپتید Y (*NPY*) نقش مؤثری در توزان مثبت انرژی در بدن به‌واسطه تحریک آدیپوژنسیس و مهار لیپولیز در بافت چربی سفید دارد [۱۶، ۲۱]. نشان داده شده است که فعالیت نورون‌های *AgRP/NPY* توسط گرلین تحریک و توسط آمیلین، انسولین، لپتین و سروتونین کاهش می‌یابد. نقش گلوکوکورتیکوئیدها در کنترل میزان بیان *NPY* نیز به اثبات رسیده است، به‌طوری‌که نتایج مطالعات نشان می‌دهد که در زمان تزریق هورمون ویسفاتین به داخل مایع مغزی نخاعی

تولیدات دامی

بومی نژاد خزک به زرده تخم مرغ‌های سویه تجاری راس ۳۰۸ سبب بهبود نرخ ضریب تبدیل غذایی، کاهش میزان چربی احشایی، کاهش نسبت تری‌گلیسیرید به کلسترول لیپوپروتئین با چگالی بالا و نیز بیان نسبی آنزیم AMPK در بافت مغز میانجی نتاج شد؛ که در مجموع دلالت بر اثرات بلندمدت عوامل مادری در تنظیم و کنترل فعالیت مسیرهای متابولیکی در نتاج دارد. بر اساس نتایج فوق‌الذکر، با توجه به اهمیت اثرات بلندمدت ترکیبات محیط تکوین جنین (زرده تخم مرغ) در کنترل و تنظیم نرخ متابولیسم نتاج و نیز وجود تفاوت‌های نژادی در ترکیبات زرده؛ لذا ممکن است دستکاری محیط تکوین جنین در سویه‌های تجاری راس ۳۰۸؛ به‌واسطه شناسایی و تزریق ترکیبات مؤثر موجود در زرده تخم مرغ بومی خزک و یا انتخاب ژنتیکی برای ژن‌های مؤثر در کنترل ترکیبات زرده تخم مرغ، سبب بهبود نرخ متابولیسم و کاهش میزان چربی احشایی در سویه‌های با نرخ رشد سریع شود.

سپاسگزاری

این پروژه در قالب طرح پژوهشی با شماره ۹۵-۵ (قرارداد شماره ۷۵۴/ط.پ) و با استفاده از اعتبارات پژوهشی دانشگاه زابل انجام شده است. به این وسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه زابل به جهت تأمین اعتبار طرح و نیز از همه کسانی که ما را در انجام این تحقیق یاری کردند، تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع

۱. وفای واله م، کریمی زندی ن و بازماندگان شمیلی ف (۱۳۹۷) اهمیت اثرات مادری در تنظیم پاسخ شاخص‌های التهابی و الگوی بیان ژن‌های $TNF-\alpha$ و Z0-1 در بافت روده و یا کبد جوجه‌های گوشتی سویه راس ۳۰۸. تولیدات دامی. (۴) ۲۰: ۵۲۵-۵۱۳.

افزایش نرخ آدیپوژنسیس و افزایش میزان ذخیره چربی احشایی می‌شود [۱۶، ۲۱]. به‌علاوه نتایج طیف گسترده‌ای از مطالعات دلالت بر ارتباط معنی‌دار بین الگوی بیان و یا تنوع در ساختار ژن NPY با صفات لاشه، نرخ رشد، ضریب تبدیل غذایی، چربی‌لاشه و نیز سطح پلاسمایی تری‌گلیسیریدها دارند [۳، ۱۴].

علی‌رغم وجود شواهد معتبر مبنی بر نقش کلیدی NPY در تنظیم میزان مصرف خوراک در مدل‌های مختلف حیوانی گزارش‌های مختلف بیانگر نتایج متفاوت و بعضی موارد متناقض در خصوص نقش NPY در کنترل مصرف خوراک در سویه‌های مختلف طیور می‌باشند. در این رابطه به‌طور خاص برخی از پژوهش‌گران گزارش کردند که هرچند تزریق درون بطنی هورمون NPY سبب افزایش میزان مصرف خوراک در هر دو سویه مرغان گوشتی و تخم‌گذار می‌شود؛ اما علی‌رغم بالاتر بودن میزان مصرف خوراک در سویه گوشتی در مقایسه با سویه تخم‌گذار، برخلاف انتظار پژوهش‌گران میزان بیان NPY و گیرنده‌های آن (Y1, Y5) در بافت هیپوتالاموس مرغان تخم‌گذار در مقایسه با مرغان گوشتی بالاتر بود. به‌علاوه پژوهش‌گران نشان دادند که تأثیر تزریق انسولین به پری‌ناتوم جوجه‌های گوشتی بر بیان NPY و گیرنده‌های آن در هیپوتالاموس جوجه‌های گوشتی وابسته به سویه می‌باشد. همچنین پژوهش‌گران گزارش کردند که تزریق انسولین به درون مایع مغزی نخاعی جوجه‌های گوشتی و یا تخم‌گذار، تنها سبب کاهش میزان بیان NPY در بافت هیپوتالاموس جوجه‌های تخم‌گذار می‌شود؛ در حالی‌که تأثیری روی بیان NPY در هیپوتالاموس طیور گوشتی ندارد. در مقابل، یافته‌های برخی مطالعات حاکی از عدم وجود تفاوت در میزان بیان NPY در بافت هیپوتالاموس جوجه‌های گوشتی و تخم‌گذار دارند [۴].

براساس نتایج این پژوهش، تزریق زرده تخم مرغ‌های

تولیدات دامی

2. Bagherzadeh Kasmani F, Torshizi K and Mehri M (2018) Effect of *Brevibacillus laterosporus* Probiotic on Hematology, Internal Organs, Meat Peroxidation and Ileal Microflora in Japanese Quails Fed Aflatoxin B1. *Journal of Agricultural Science and Technology* 20(3): 459-468.
3. Blankenship K, Gilley A, Piekarski A, Orlowski S, Greene E, Bottje W, Anthony N and Dridi S (2016) Differential expression of feeding-related hypothalamic neuropeptides in the first generation of quails divergently selected for low or high feed efficiency. *Neuropeptides* 58: 31-40.
4. Buzala M and Janicki B (2016) Review: Effects of different growth rates in broiler breeder and layer hens on some productive traits. *Poultry Science* 95(9): 2151-2159.
5. Cavaliere G, Viggiano E, Trinchese G, De Filippo C, Messina A, Monda V, Valenzano A, Cincione RI, Zammit C, Cimmino F, Catapano A, Sessa F, Messina G, Monda M, Crispino M and Mollica MP (2018) Long Feeding High-Fat Diet Induces Hypothalamic Oxidative Stress and Inflammation, and Prolonged Hypothalamic AMPK Activation in Rat Animal Model. *Frontiers in Physiology* 9: 1-12.
6. Chiang JK, Lai NS, Chang JK and Koo M (2011) Predicting insulin resistance using the triglyceride-to-high-density lipoprotein cholesterol ratio in Taiwanese adults. *Cardiovascular Diabetology* 10(1): 93-99.
7. Garamszegi LZ, Biard C, Eens M, Moller AP, Saino N and Surai P (2007) Maternal effects and the evolution of brain size in birds: overlooked developmental constraints. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 31: 498-515.
8. Giraudeau M and Ducatez S (2016) Co-adjustment of yolk antioxidants and androgens in birds. *Biology letters* 12(11): 1-4.
9. Groothuis TG and Schwabl H (2008) Hormone-mediated maternal effects in birds: mechanisms matter but what do we know of them? *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 363(1497): 1647-1661.
10. Jordan SD, Konner AC and Bruning JC (2010) Sensing the fuels: glucose and lipid signaling in the CNS controlling energy homeostasis. *Cellular and molecular life sciences* 67: 3255-73.
11. Knopfholz J, DisserolCC, Pierin AJ, Schirr FL, Streisky L, Takito LL, Massucheto Ledesma P, Faria-Neto JR, Olandoski M, da Cunha CL and Bandeira AM (2014) Validation of the friedewald formula in patients with metabolic syndrome. *Cholesterol* 2014: 1-5.
12. Lecoutre S and Breton C (2015) Maternal nutritional manipulations program adipose tissue dysfunction in offspring. *Frontiers in physiology* 6: 158-165.
13. Li Z, Liu X, Zhang P, Han R, Sun G, Jiang R, Wang Y, Liu X, Li W, Kang X and Tian Y (2018) Comparative transcriptome analysis of hypothalamus-regulated feed intake induced by exogenous visfatin in chicks. *BMC Genomics* 19 (1): 249-266.
14. Liu WC, Chen SY, Jia XB, Wang J and Lai SJ (2014) Effects of variants in proopiomelanocortin and neuropeptide y genes on growth, carcass, and meat quality traits in rabbits. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 27(5): 609-615.
15. Lopez M, Nogueiras R, Tena-Sempere M and Dieguez C (2016) Hypothalamic AMPK: a canonical regulator of whole-body energy balance. *Nature Reviews Endocrinology* 12(7): 421-432.
16. Nillni EA (2018) *Textbook of Energy Balance, Neuropeptide Hormones, and Neuroendocrine Function*. Springer, Switzerland.
17. Podmokla E, Drobniak SM and Rutkowska J (2018) Chicken or egg? Outcomes of experimental manipulations of maternally transmitted hormones depend on administration method - a meta-analysis. *Biological Reviews* 93(3): 1499-1517.
18. Richards MP (2003) Genetic regulation of feed intake and energy balance in poultry. *Poultry science* 82(6): 907-916.
19. Richards MP and Proszkowiec-Weglarz M (2007) Mechanisms regulating feed intake, energy expenditure, and body weight in poultry. *Poultry science* 86(7): 1478-1490.
20. Ronnett GV, Ramamurthy S, Kleman AM, Landree LE and Aja S (2009) AMPK in the brain: its roles in energy balance and neuroprotection. *Journal of neurochemistry* 109: 17-23.
21. Shi YC and Baldock PA (2012) Central and peripheral mechanisms of the NPY system in the regulation of bone and adipose tissue. *Bone* 50(2): 430-436.
22. Sintubin P, Greene E, Collin A, Bordas A, Zerjal T, Tesseraud S, Buyse J and Dridi S (2014) Expression profile of hypothalamic neuropeptides in chicken lines selected for high or low residual feed intake. *Neuropeptides* 48(4): 213-220.
23. Tangvarasittichai S (2015) Oxidative stress, insulin resistance, dyslipidemia and type 2

- diabetes mellitus. World journal of diabetes 6(3): 456-480.
24. Xu P, Siegel PB. and. Denbow DM (2011) Genetic selection for body weight in chickens has altered responses of the brain's AMPK system to food intake regulation effect of ghrelin, but not obestatin. Behavioural Brain Research, 221(1): 216-226.
25. Zhuo Z, Lamont SJ, Lee WR and Abasht B (2015) RNA-Seq Analysis of Abdominal Fat Reveals Differences between Modern Commercial Broiler Chickens with High and Low Feed Efficiencies. PLoS One 10(8): 1-16.



Animal Production

(College of Abouraihan – University of Tehran)

Vol. 21 ■ No. 2 ■ Summer 2019

Evaluation of the role of maternal effects in regulating the rate of metabolism and expression of *AMPK*, *NPY* genes in Ross 308 broiler chickens

Mehdi Vafaye Valleh^{1*}, Nahid Karimi Zandi², Mahdeieh Najmadini²

1. Associate Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Zabol, Zabol, Iran.

2. Former M.Sc. Student, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Zabol, Zabol, Iran.

Received: March 6, 2019

Accepted: June 3, 2019

Abstract

In this research, the effect of in ovo injection of egg yolk of native Khazak chicken into the egg yolk of the commercial Ross 308 strain at prior to incubation on some metabolic-related parameters were tested in the resulting progeny. The search parameters included feed intake, feed conversion ratio, some of serum biochemical parameters, malondialdehyde concentration as well as relative expression of AMP-activated protein kinase (AMPK) and Neuropeptide Y (NPY) genes in progeny's brain tissue. To achieve this goal, 320 fertile Ross 308 eggs were equally allocated in a completely randomized design into two experimental groups, those injected with Khazak yolk (Test) and control group. Blood and tissue samples were collected at the end of experiment and evaluated for the parameters noted. Compared with the control group, Khazak egg-yolk injection resulted in a significant improvement in the feed conversion ratio as well as significant decreases in serum triglyceride, triglyceride/HDL-C ratio, relative visceral fat mass content and levels of AMPK expression in the progeny's brain. In contrast, Khazak yolk injection had no effect on the 45-day body weight, cumulative feed intake, relative brain weight, serum glucose, cholesterol and LDL-c levels but also had no effects on malondialdehyde concentration and NPY expression in progeny brain tissue. According to the results of this study, the injection of native Khazak egg yolk into the yolk of the commercial Ross 308 eggs have effectively improved the feed efficiency and reduced AMPK expression in the diencephalon region of the progeny's brain.

Keywords: Diencephalon, Fat oxidation, Feed intake, TG/HDL-C Ratio, Visceral Fat.