IranJPP
Iranian Journal of
Physiology and Pharmacology

مجله فیزیولوژی و فارماکولوژی ایران

۱ (۲)، ۹۷- ۹۰ تابستان ۱۳۹۶

Downloaded from phypha.ir at 13:07 +0430 on Saturday May 18th 2019

مقاله پژوهشی

اثر تزریق داخل بطنی مغزی L-آرژنین بر میزان بیان نسبی mRNA ژن‌های گلوتامیک اسید دکربوکسیلاز ۱ و ۲ (GAD_1 و GAD_2) در ساقه مغز جوجه‌های نوزاد

کسری مختارپوریانی[۱]، مرتضی زنده‌دل[۱*]، حسین جنیدی[۲]، پرویز شایان[۳]، وهاب باباپور[۱]، سیده ثنا رضوی‌فرد[۱]

۱. بخش فیزیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران
۲. گروه علوم پایه دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان
۳. گروه انگل شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران

دریافت: ۱۱ خرداد ۹۴ پذیرش: ۲ شهریور ۹۴

چکیده

زمینه و هدف: سیستم‌های نیترارژیک و گاباارژیک در دستگاه اعصاب مرکزی اعمال مختلفی را انجام می‌دهند. آزادسازی و تعدیل تعدادی از میانجی‌های عصبی تحت تاثیر نیتریک اکساید است. مطالعه حاضر اثر تزریق داخل بطنی مغزی L-آرژنین بعنوان پیش ساز نیتریک اکساید بر بیان نسبی mRNA ژن‌های گلوتامیک اسید دکربوکسیلاز ۱ و ۲ (GAD_1 و GAD_2) درساقه مغز جوجه‌های نوزاد را بررسی می‌کند.

روش‌ها: ۱۵ جوجه نوزاد نژاد لگهورن در سه گروه کنترل (بدون تزریق)، شَم (تزریق داخل بطنی مغزی رنگ اوانس‌بلو ۱/۰٪) و گروه تزریق داخل بطنی مغزی ۸۰۰ نانومول L-آرژنین دسته‌بندی شدند ($n = 5$).

یافته‌ها: تزریق داخل بطنی مغزی L-آرژنین کاهش معنی‌داری در بیان نسبی mRNA ژن‌های GAD_1 و GAD_2 ایجاد کرد ($p < ۰/۰۵$). میزان بیان نسبی mRNA این دو ژن در گروه‌های شم و کنترل مشابه بود و تفاوت معنی‌داری نداشت ($p > ۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری: از نتایج این تحقیق می‌توان نتیجه گرفت که احتمالا تعدادی از رفتارهای فیزیولوژیک از جمله اخذ غذا ناشی از اثر نیتریک اکساید بر سیستم گابا در سطح مولکولی از طریق کاهش بیان نسبی mRNA ژن‌های GAD_1 و GAD_2 انجام می‌شود.

واژه‌های کلیدی : ال-آرژنین ، تزریق داخل بطنی مغزی، جوجه‌های نوزاد، گلوتامیک اسید دکربوکسیلاز

مقدمه

نیتریک اکساید (NO) یک رادیکال آزاد است که علیرغم ساده بودن ساختار شیمیایی، یک تنظیم کننده مهم در فرایندهای زیستی مهره‌داران بشمار می آید. NO در سلول های متعددی از جمله نورون‌ها، سلول‌های اندوتلیال و ماکروفاژها توسط گروهی از آنزیم‌ها به نام نیتریک اکساید سنتازها (NOSs) ساخته می شود [۱]. NO به روش آنزیمی بعد از فعال شدن گیرنده NMDA گلوتامات توسط آنزیم نیتریک اکساید سنتاز از L-آرژنین ساخته شده و باعث افزایش رهایش دوپامین، استیل کولین و گلوتامات می‌شود [۱]. این میانجی عصبی در سیستم عصبی مرکزی اعمال متعددی را میانجیگری می‌نماید و آنزیم نیتریک اکساید سنتاز عصبی (nNOS) در نواحی مختلف سیستم عصبی از جمله آمیگدال، هیپوکامپ و بخش پشتی ماده خاکستری دور قنات سیلویوس بیان می‌شود [۱].

* نویسندهٔ مسئول مکاتبات: zendedel@ut.ac.ir
وبگاه مجله: http://ijpp.phypha.ir
پست الکترونیکی: ijpp@phypha.ir

Downloaded from phypha.ir at 13:07 +0430 on Saturday May 18th 2019

گاما آمینوبوتیریک اسید یا گابا (GABA) اصلی‌ترین میانجی‌عصبی مهاری در دستگاه اعصاب مرکزی می‌باشد و آنزیم گلوتامیک اسید دکربوکسیلاز (GAD) با دو ایزوفرم (GAD_1 و GAD_2) بصورت یک طرفه، گلوتامات (عمده ترین میانجی‌عصبی تحریکی مغز) را به گابا تبدیل می‌کند و گابا نیز توسط آنزیم گابا ترانس آمیناز (GABA-T) کاتابولیزه می‌شود [۲]. گیرنده‌های گابا شامل انواع $GABA_A$، $GABA_B$ و $GABA_C$ می‌باشند که در دو گروه گیرنده‌های یونوتروپیک و متابوتروپیک دسته‌بندی می‌شوند که گیرنده‌های $GABA_A$ و $GABA_C$ از نوع یونوتروپیک و گیرنده $GABA_B$ متابوتروپیک است و مطالعات مختلف نشان داده‌اند که سیستم گاباارژیک در دستگاه اعصاب مرکزی نقش‌های مختلفی را بر عهده دارد [۲].

تاکنون مطالعات انجام شده مشخص ساخته است که افزایش دهنده‌های میزان نیتریک اکساید همچون SNAP و linsidomine باعث آزاد سازی گلوتامات می‌شوند، درصورتی که مهار کننده آنزیم نیتریک اکساید سنتاز همچون L-NAME باعث کاهش رهایش گلوتامات می‌شوند [۳]. ازطرفی آزاد شدن گابا نیز توسط نیتریک اکساید تعدیل می‌شود و در موش، نیتریک اکساید و افزایش دهنده‌های آن باعث آزاد سازی گابا از استریاتوم، هیپوکمپ و نورون‌های قاعده مغز قدامی می‌شود [۴]. بعلاوه نتایج تحقیقات نشان داده است که نیتریک اکساید در دستگاه اعصاب مرکزی در بیان ژن‌ها نقش دارد [۴]. همچنین شواهدی مبنی بر نقش سیستم گاباارژیک و نیترارژیک در ساقه مغز جوجه‌ها در ارتباط با رفتار های فیزیولوژیک (ازجمله اخذ غذا) نیز مشخص شده است [۵]. با توجه به این مطالعات به نظر می‌رسد که سیستم نیترارژیک و گاباارژیک در نقاط مختلف مغز دارای تداخل عملکردی هستند، لذا مطالعه حاضر سعی در مشخص ساختن اثرات تزریق داخل بطنی مغزی L–آرژینین بعنوان پیش‌ساز نیتریک اکساید بر بیان نسبی mRNA آنزیم‌های GAD_1 و GAD_2 در ساقه مغز جوجه‌های نوزاد را دارد تا بتواند قسمتی از تاثیرات سیستم نیترارژیک را بر سیستم گاباارژیک مشخص سازد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه از ۱۵ جوجه تخم‌گذار یک روزه نژاد لگ هورن (شرکت مرغک، تهران، ایران) با میانگین وزنی بین ۴۵ تا ۵۰ گرم استفاده شد. جوجه‌ها در دمای ۱ ± ۳۲ درجه سانتی گراد، با رطوبت نسبی ۵۰–۴۰٪ با نور ۲۴ ساعت و دسترسی آزاد به آب و غذا (جیره استارتر استاندارد: ۲۱٪ پروتئین خام و ۲۸۵۰ kcal/kg انرژی قابل متابولیزه، شرکت چینه، تهران، ایران) نگهداری شدند [۵]. جنبه های اخلاقی کار با حیوانات منطبق با راهنمای مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی (موسسه ملی سلامت ایالات متحده آمریکا) رعایت گردید. در ابتدا جوجه‌ها بمدت ۳ روز بصورت گروهی و سپس بمدت ۲ روز در قفس‌های انفرادی قرار گرفتند. برای آزمایش، جوجه‌ها در سه گروه ۵ تایی به صورت تصادفی دسته‌بندی شدند. در گروه کنترل تزریق داخل بطنی مغزی انجام نشد (Blank)، در گروه شَم تزریق بطنی مغزی رنگ اوانس‌بلو (Sham) انجام شد و در گروه آخر تزریق L–آرژینین (محلول در نرمال سالین حاوی ۰/۱٪ رنگ اوانس بلو) بصورت داخل بطنی مغزی انجام گرفت. بعد از ۳۰ دقیقه سر جوجه ها با گیوتین بریده شد و حضور و پخش شدن رنگ اوانس‌بلو در بطن‌های مغز نشان از درست بودن تزریق بود (شکل ۱)، سپس بلافاصله ساقه مغز بصورت استریل جدا سازی شد و در داخل نیتروژن مایع قرار گرفت و نهایتا نمونه‌ها تا زمان استخراج RNA در دمای ۸۰– نگهداری شدند. در این مطالعه غلظت رنگ اوانس بلو (Sigma, USA) ۰/۱٪ و غلظت L–آرژینین (Sigma, USA) ۸۰۰ نانومول براساس مطالعات قبلی [۶] و مقدماتی تعیین شد و رقیق‌سازی در نرمال سالین استریل انجام شد. حجم هر تزریق داخل بطنی مغزی ۱۰ میکرولیتر بود. جهت انجام تزریق داخل بطنی مغزی، سر جوجه هوشیار در در یک وسیله اکریلیک قرار گرفت که دارای یک پایه مقید کننده منقار بود. پایه مقیدکننده منقار در این وسیله دارای زاویه

شکل ۱– نحوه پخش شدن رنگ اوانس بلو در بطن مغز متعاقب تزریق داخل بطنی مغزی

Downloaded from phypha.ir at 13:07 +0430 on Saturday May 18th 2019

جدول ۱- پرایمرهای طراحی شده برای Semi quantitative RT-PCR ژن‌های GAD_1، GAD_2 و بتا اکتین

Target	Forward	Reverse	Size of PCR product (bp)	Accession No.
GAD_1	5′-TGGAAGGCAAAGGGTACAGT-3′	5′-GTTGCTGCTGGGTTTGAGAT-3′	326	NM_204913
GAD_2	5′-GATGTGGAGGGCAAAGGGAA-3′	5′-GTTGCTGCTGGGTTTGAGAT-3′	320	XM_418596
β-actin	5′-ACTGGATTTCGAGCAGGAGAT-3′	5′-TTAGAAGCATTTGCGGTGGACAA-3′	468	L08165

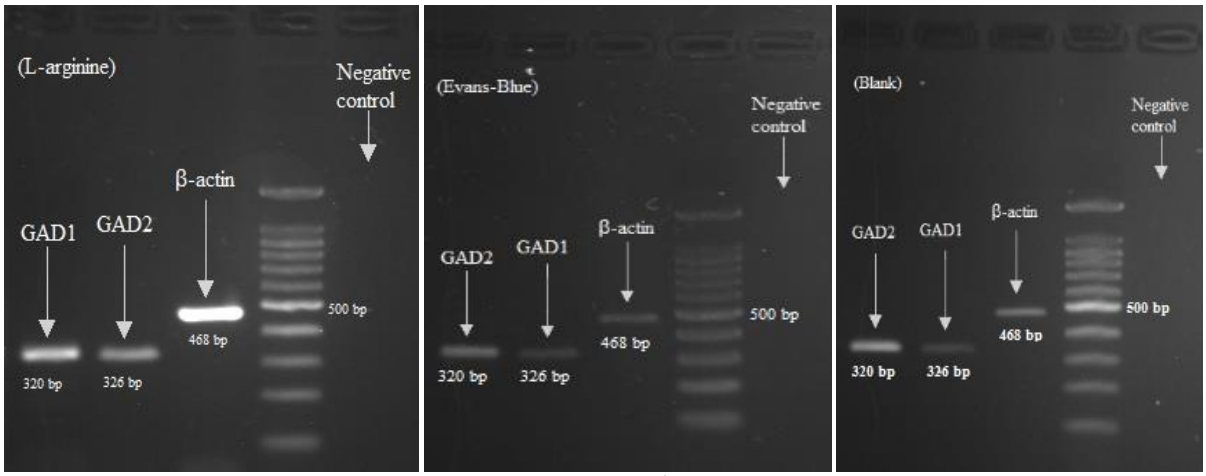
۴۵ درجه بود، بطوری که سطح جمجمه جوجه موازی با سطح میز کار قرار گرفت. کلیشه‌ای که قبلاً در آن یک سوراخ تعبیه شده بود بلافاصله بر روی جمجه در ناحیه بطن راست قرار گرفت. سپس با استفاده از میکرو سرنگ هامیلتون از طریق سوراخ موجود در کلیشه ماده مورده نظر در بطن تزریق شد و سر سوزن تنها به اندازه ۴ میلی متر در پوست و جمجه فرو می‌رفت [۷]. در این روش با وجود هوشیار بودن و عدم استفاده از ماده بیهوشی، پروسه تزریق در جوجه‌ها استرس‌زا نمی‌باشد [۸].

استخراج RNA توسط RNA Isolation kit (MEST, Tehran, Iran) مطابق با دستورالعمل شرکت سازنده انجام شد (فقط شستشو با بافر شستوشو دهنده A، ۲ بار تکرار شد). در مرحله بعد بمنظور اطمینان از عدم حضور هر مقدار DNA، از کیت DNase, RNase free (Sinaclon, Tehran, Iran) مطابق دستورالعمل شرکت سازنده استفاده شد. جهت اطمینان از مقدار و کیفیت RNA استخراج شده بترتیب روش‌های اسپکتروفتومتر و الکتروفورز ژل آگاروز انجام شد. مطابق دستور عمل شرکت سازنده میزان ۱ میکروگرم RNA استخراج شده، ۱ میکرولیتر بافر 10X به همراه $MgCl_2$ و ۰/۵ واحد آنزیم DNaseI, RNase free که با DEPC-Treated Water به ۱۰ میکرولیتر رسانده شد، به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه قرار داده شد. سپس ۱ میکرولیتر 50 mM EDTA اضافه شد و این بار به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۶۵ درجه قرار گرفت. در مرحله بعدی ۱ میکرولیتر Random Hexamers و ۴ میکرولیتر DEPC-Treated Water بمدت ۵ دقیقه در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و سپس ۲ میکرولیتر Reaction Buffer، ۲ میکرولیتر dNTP و ۱ میکرولیتر M-MuLV reverse transcriptase به آن اضافه شد و نهایتاً بعد از مدت ۶۰ دقیقه در دمای ۴۲ درجه سانتی‌گراد و ۱۰ دقیقه در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد ساخت cDNA تکمیل گردید. cDNA در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد برای انجام PCR نگهداری شد.

پرایمرها مطابق با جدول ۱ بر روی اگزون‌های مختلف هر ژن طراحی و ساخته شد (Generay, Shanghai, China). به منظور تشکیل آمپلیکون‌ها از کیت یک مرحله‌ای Accupower PCR Premix (Bioneer, Germany) مطابق با دستورالعمل شرکت سازنده استفاده شد. برای PCR ژن‌های GAD_1 و GAD_2 ابتدا ۵ دقیقه دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد برای گرم شدن اولیه در نظر گرفته شد، سپس تعداد ۳۵ سیکل بصورت ۹۵ درجه سانتی‌گراد ۲۵ ثانیه، ۵۷ درجه سانتی‌گراد ۲۵ ثانیه و ۷۲ درجه سانتی‌گراد ۳۰ ثانیه انجام شد و در انتها ۱۰ دقیقه دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد برای تکمیل فرایند در نظر گرفته شد. برای PCR بتا اکتین ابتدا ۵ دقیقه دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد برای گرم شدن اولیه درنظر گرفته شد و سپس ۳۵ سیکل بصورت ۹۶ درجه سانتی‌گراد ۴۵ ثانیه، ۶۳ درجه سانتی‌گراد ۱ دقیقه و ۷۲ درجه سانتی‌گراد ۴۵ ثانیه انجام شد و در انتها ۱۰ دقیقه دمای ۷۲ درجه سانتی گراد برای تکمیل فرایند در نظر گرفته شد. محصولات PCR در ژل آگاروز ۱/۵درصد (۰/۳۷۵ گرم پودر آگارز در ۲۵ سی‌سی TBE ۰/۵٪) با رنگ Red Safe (۱ میکرولیتر در ۲۵ سی‌سی ژل) الکتروفورز شد. تراکم باندهای بدست آمده بر روی ژل توسط نرم فزار Photo-Capt V.99 مورد بررسی قرار گرفتند و میزان بیان نسبی mRNA بصورت GAD_1/β-actin، GAD_2/β-actin قرائت شد.

داده‌های بدست آمده از این مطالعه بوسیله نرم افزار SPSS (16) و با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) تجزیه و تحلیل شد و برای بررسی سطح معنی‌داری بین گروه‌ها از تست تعقیبی Tukey استفاده گردید ($p < ۰/۰۵$). داده‌ها بصورت میانگین ± انحراف معیار ارائه شده است.

Downloaded from phypha.ir at 13:07 +0430 on Saturday May 18th 2019

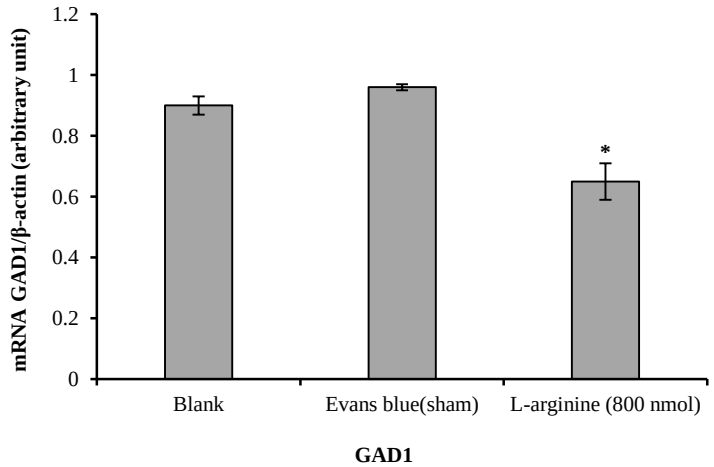


(A): گروه کنترل، بدون تزریق (B): گروه شَم، تزریق با اوانس‌بلو ۰.۱ ٪ (C): تزریق L–آرژینین (۸۰۰ نانومول)

شکل ۲- میزان بیان نسبی mRNA ژن‌های GAD_1 و GAD_2 با استفاده از روش Semi quantitative RT-PCR در ساقه مغز جوجه‌های نوزاد. گروه کنترل (A)، گروه شَم تزریق شده با اوانس‌بلو (B) و گروه تزریق شده با L– آرژینین (۸۰۰ نانومول) (C)، (n = 5).

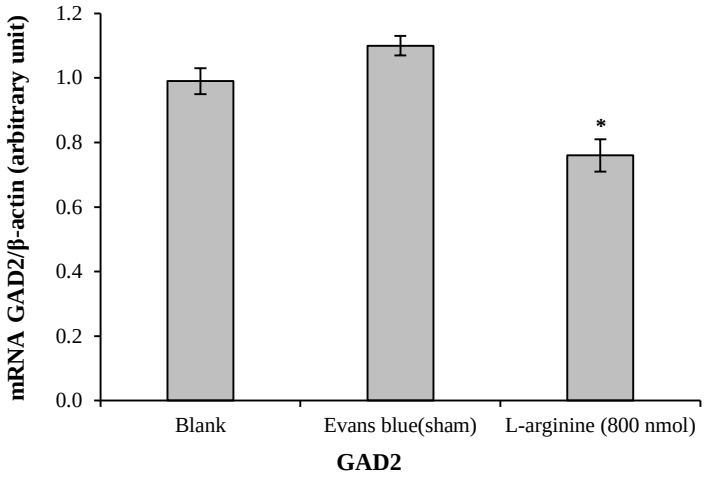
یافته‌ها

میزان بیان نسبی ژن‌های GAD_1 و GAD_2 با استفاده از روش semi quantitative RT-PCR در ساقه مغز جوجه‌های نوزاد مورد بررسی قرار گرفت. نتایج RT-PCR در شکل ۲، و نمودارهای ۱ و ۲ نشان داده شده است. گروه کنترل که در آن تزریقی انجام نشد و گروه شَم که در آن تزریق داخل بطنی مغزی رنگ اوانس‌بلو انجام شد، بعنوان گروه‌های شاهد در نظر گرفته شدند و هدف از بررسی گروه شَم صرفا بررسی اثر تزریق داخل بطنی مغزی بر میزان بیان نسبی mRNA ژن‌ها بود. بیان β-actin در تمام نمونه‌ها شناسایی شد. در نتایج RT-PCR میزان بیان نسبی mRNA ژن GAD_1 در اثر تزریق داخل بطنی مغزی L–آرژینین (۸۰۰ نانومول) نسبت به گروه کنترل و گروه شَم کاهش معناداری داشت ($p < ۰/۰۵$) اما میزان بیان نسبی mRNA این ژن در دو گروه کنترل و شَم اختلاف معناداری نداشت ($p > ۰/۰۵$ ، نمودار ۱). همچنین تزریق داخل بطنی مغزی L–آرژینین با دوز ۸۰۰ نانومول، بیان نسبی mRNA ژن GAD_2 را نسبت به گروه کنترل و گروه شَم بصورت معناداری کاهش داد ($p < ۰/۰۵$) در حالیکه میزان بیان نسبی mRNA این ژن در دو گروه کنترل و شم اختلاف معناداری نداشت (نمودار ۲).



نمودار ۱- میزان بیان نسبی mRNA ژن گلوتامیک اسید دکربوکسیلاز ۱ (GAD_1) متعاقب تزریق داخل بطنی مغزی ۸۰۰ نانومول L–آرژنین در ساقه مغز جوجه های نوزاد. داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار است و علامت * نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروههای بلانک و ایوانس بلو با $p < ۰/۰۵$ می باشد.

Downloaded from phypha.ir at 13:07 +0430 on Saturday May 18th 2019



نمودار ۲- میزان بیان نسبی mRNA ژن گلوتامیک اسید دکربوکسیلاز ۲ (GAD_2) متعاقب تزریق داخل بطنی مغزی ۸۰۰ نانومول L-آرژنین در ساقه مغز جوجه های نوزاد. داده ها بصورت میانگین ± انحراف معیار است و علامت * نشان دهنده اختلاف معنی دار با گروههای بلانک و ایوانس بلو با $p < ۰/۰۵$ می باشد.

بحث

سیستم‌های نیترارژیک و گاباارژیک در نقاط مختلف دستگاه اعصاب مرکزی اعمال مختلفی را انجام می‌دهند. اخیراً در مطالعات انجام شده مشخص شده است که آزادسازی و تعدیل تعدادی از میانجی‌های عصبی تحت تاثیر نیتریک اکساید است [۹]. در یک محل قرار گرفتن همزمان نیتریک اکساید و گابا در کورتکس رت توسط Hedlich و همکاران پیشنهاد شده بود [۱۰] و بعدا نیز مشخص شد که تمام نورون‌های نیترارژیک داخل قشری دارای میانجی‌عصبی گابا هستند [۱۱]. بعلاوه نورون‌های لایه ماده ژلاتینی نخاع رت دارای آنزیم نیتریک اکساید سنتاز هستند و پایانه‌های این نورون‌ها علاوه بر این آنزیم میانجی‌عصبی گابا را نیز دارند [۱۲]. در هسته پاراونتریکولار رت نیتریک اکساید می‌تواند مهار گاباارژیک ناشی از فعال شدن گیرنده‌های NMDA را بشدت کنترل کند [۱۳]. همچنین در مطالعه ای دیگر نیز معلوم شد که اثر مهاری نیتریک اکساید اندوژن در هسته پاراونتریکولار بر فعالیت اعصاب سمپاتیک توسط گابا میانجی‌گری می‌شود [۱۴]. در کورتکس مقادیر بالای نیتریک اکساید باعث مهار فعالیت آنزیم گاما آمینوبوتیریک اسید ترانس آمیناز می شود و از این طریق با مهار تجزیه گابا موجب افزایش مقادیر آن در کورتکس می گردد که همبستگی بین نیتریک اکساید و گاما آمینوبوتیریک اسید ترانس آمیناز را نشان می دهد [۱۵]. گلوتامات و گابا تعدیل تولید پایه نیتریک اکساید را در نورون‌های NTS انجام می‌دهند [۱۶]. مطالعات فارماکولوژیک تداخل عملکردی بین فعالیت گیرنده‌های گابا و نیتریک اکساید را در مغز نشان می‌دهد بنحوی که گیرنده‌های $GABA_A$ در تعدیل فعالیت نیتریک اکساید سنتاز نقش دارند [۱۷]. مطالعات ذکر شده تداخل عملکردی دو سیستم نیترارژیک و گاباارژیک را در نقاط مختلف دستگاه عصبی پستانداران نشان می‌دهد و احتمالا این مطالعات بیشتر شواهدی هستند که نشان می دهند نیتریک اکساید فعالیت گابا را در دستگاه اعصاب مرکزی پستانداران افزایش می دهد. با این وجود مطالعات کمی جهت مشخص شدن ارتباط بین دو سیستم در پرندگان انجام گرفته است. مشخص شده است که نیتریک اکساید بعنوان یک میانجی در دستگاه اعصاب مرکزی در اخذ غذا در پستاندارن و پرندگان دارای اهمیت است [۱۸] اما در جوجه‌های نوزاد بر خلاف پستانداران نیتریک اکساید باعث کاهش اخذ غذا می‌شود که می‌تواند به علت تفاوت‌ها بین رده پستانداران و پرندگان باشد [۱۹]. شاید به همین دلیل باشد که در پستانداران نیتریک اکساید موجب افزایش گابا ولی در جوجه های نوزاد که در این مطالعه صورت گرفته است باعث کاهش سنتز گابا می شود. همچنین در جوجه‌های راس ۳۰۸ تداخل بین سیستم های نیترارژیک و گاباارژیک بر روی رفتار تغذیه ای مشخص شده است بطوری که بین نیتریک اکساید و گیرنده $GABA_A$ یک تداخل عمل در کنترل مرکزی اخذ غذا وجود دارد [۲۰]. لازم به ذکر است که مطالعات انجام شده در زمینه ارتباط بین سیستم‌های نیترارژیک و گاباارژیک در جوجه‌ها بیشتر مطالعات

Downloaded from phypha.ir at 13:07 +0430 on Saturday May 18th 2019

رفتاری بوده و تاکنون در جوجه‌ها مطالعه مولکولی که نشان دهنده ارتباط بین نیتریک اکساید و گابا باشد انجام نگرفته است.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج حاصل از این تحقیق احتمالا نیتریک اکساید در ساقه مغز جوجه‌های نوزاد لگ‌هورن موجب کاهش بیان نسبی mRNA ژن‌های GAD_1 و GAD_2 می شود هر چند که برای اثبات این ارتباط در رفتارهای مختلف فیزیولوژیک نیاز به تحقیقات بیشتری می باشد.

سپاسگزاری

از همکاری گروه فیزیولوژی و کمیته اخلاق دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، همکاران ارجمند آزمایشگاه مرکزی دانشکده دامپزشکی (آزمایشگاه دکتر رستگار) و همچنین معاونت پژوهشی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران که حمایت‌های مالی انجام طرح را عهدا دار شد، تشکر و قدردانی می‌شود.

تعارض در منافع

نویسندگان این مقاله تعارض در منافع ندارند.

سهم نویسندگان

ک.م.: انجام مطالعه و نگارش مقاله؛ م.ز: ایده، طراحی، و نظارت بر حسن اجرای مطالعه؛ ح.ج: انجام مطالعه و نگارش مقاله؛ پ.ش: انجام مطالعه؛ و.ب: مشاوره؛ س.ث.ر: انجام بخشی از مطالعه.

فهرست منابع

[1] Zarrindast MR, Shendy MM, Ahmadi S, Nitric oxide modulates state dependency induced by lithium in an inhibitory avoidance task in mice. ***Behav Pharmacol*** 18 (2007) 289-295.

[2] Nasreen Z, Jameel T, Hasan A, Parveen N, Sadasivudu B, Glutamate decarboxylase and GABA aminotransferase levels in different regions of rat brain on the onset of Leptazol induced convulsions. ***Neurochem Res*** 37 (2012) 202-204.

[3] Lawrence AJ, Jarrott B, Nitric oxide increases interstitial excitatory amino acid release in the rat dorsomedial medulla oblongata. ***Neurosci Lett*** 151 (1993) 126-129.

[4] Segovia G, Porras A, Mora F, Effects of a nitric oxide donor on glutamate and GABA release in striatum and hippocampus of the conscious rat. ***Neuroreport*** 5 (1994) 1937-1940.

[5] Bungo T, Izumi T, Kawamura K, Takagi T, Ueda H, Furuse M, Intracerebroventricular injection of muscimol, baclofen or nipecotic acid stimulates food intake in layer-type, but not meat-type, chicks. ***Brain Res*** 993 (2003) 235-238.

[6] Alimohammadi S, Zendehdel M, Babapour V, Modulation of opioid-induced feeding behavior by endogenous nitric oxide in neonatal layer-type chicks. ***Vet Res Commun*** 39 (2015) 105-113.

[7] Davis JL, Masuoka DT, Gerbrandt LK, Cherkin A, Autoradiographic distribution of L-proline in chicks after intracerebral injection. ***Physiol Behav*** 22 (1979) 693-695.

[8] Koutoku T, Takahashi H, Tomonaga S, Oikawa D, Saito S, Tachibana T, Han L, Hayamizu K, Denbow DM, Furuse M, Central administration of phosphatidylserine attenuates isolation stress-induced behavior in chicks. ***Neurochem Int*** 47 (2005) 183-189.

[9] Prast H, Philippu A, Nitric oxide as modulator of neuronal function. ***Prog Neurobiol*** 64 (2001) 51-68.

[10] Hedlich A, Luth HJ, Werner L, Bar B, Hanisch U, Winkelmann E, [GABAergic NADPH-diaphorase-positive Martinotti cells in the visual cortex in rats]. ***J Hirnforsch*** 31 (1990) 681-687.

[11] Valtschanoff JG, Weinberg RJ, Kharazia VN, Schmidt HH, Nakane M, Rustioni A, Neurons in rat cerebral cortex that synthesize nitric oxide: NADPH diaphorase histochemistry, NOS immunocytochemistry, and colocalization with GABA. ***Neurosci Lett*** 157 (1993) 157-161.

[12] Valtschanoff JG, Weinberg RJ, Rustioni A, Schmidt HH, Nitric oxide synthase and GABA colocalize in lamina II of rat spinal cord**.** ***Neurosci Lett*** 148 (1992) 6-10.

[13] Bains JS, Ferguson AV, Nitric oxide regulates NMDA-driven GABAergic inputs to type I neurones of the rat paraventricular nucleus. ***J Physiol*** 499 (Pt 3) (1997) 733-746.

[14] Zhang K, Patel KP, Effect of nitric oxide within the paraventricular nucleus on renal sympathetic nerve discharge: role of GABA. ***Am J Physiol*** 275 (1998) R728-734.

[15] Jayakumar AR, Sujatha R, Paul V, Asokan C, Govindasamy S, Jayakumar R, Role of nitric oxide on GABA, glutamic acid, activities of GABA-T and GAD in rat brain cerebral cortex. ***Brain Res*** 837 (1999) 229-235.

[16] Pajolla GP, Accorsi-Mendonça D, Rodrigues GJ, Bendhack LM, Machado BH, Lunardi CN, Fluorescent indication that nitric oxide formation in NTS neurons is modulated by glutamate and GABA. ***Nitric Oxide*** 20 (2009) 207-216.

[17] Paul V, Subramanian EH, Rajasekaran K, Pharmacological evidence for a role of gamma-aminobutyric acid A receptor mechanism in modulating nitric oxide synthase activity in rat brain. ***Neurochem Int*** 38 (2001) 209-211.
[18] Choi YH, Furuse M, Okumura J, Denbow DM, Nitric oxide controls feeding behavior in the chicken. ***Brain Res*** 654 (1994) 163-166.
[19] Khan MS, Nakano Y, Tachibana T, Ueda H, Nitric oxide synthase inhibitor attenuates the anorexigenic effect of corticotropin-releasing hormone in neonatal chicks. ***Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol*** 149 (2008) 325-329.
[20] Jonaidi H, Abbasnejad M, Kohansal Z, Effect of Nitric oxide and GABA A receptors on feed intake in chickens. **Online J Vet Res** 17 (2013) 113-120.

Downloaded from phypha.ir at 13:07 +0430 on Saturday May 18th 2019

Downloaded from phypha.ir at 13:07 +0430 on Saturday May 18th 2019

Research paper

The effect of intracerebroventricular injection of L-arginine on relative expression of mRNA of glutamic acid decarboxylase 1 and 2 (GAD1 and GAD2) genes in brain stem of neonatal chicken

Kasra Mokhtarpouriani[1], Morteza Zendehdel[1*], Hossein Jonaidi[2], Parviz Shayan[3], Vahab Babapour[1], Seyedeh Sana Razavi-Fard[1]

1. Department of Physiology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran
2. Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran
3. Department of Parasitology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran

Received: 1 June 2015 Accepted: 24 August 2015

Abstract

Background and aim: Central Nitrergic and GABAergic play several roles in central nervous system. Release and modulation of some neurotransmitters can be affected by nitric oxide. This study was performed to find the effect of intracerebroventricular (ICV) injection of L-arginine as a donor of nitric oxide on the relative mRNA expression of GAD1 and GAD2 in the brain stem of neonatal chicken.

Methods: Fifteen Leghorn neonatal chicks were divided into a control group (no injection), sham group (ICV injection of Evans-Blue 0.1%) and test group (ICV injection of 800 nM L-arginine.

Results: ICV injection of L-arginine significantly decreased the relative mRNA expression of GAD1 and GAD2 ($p < 0.05$). The relative mRNA expression of these two genes in sham group and control group was similar ($p > 0.05$).

Conclusion: It seems that the effect of nitric oxide on GABAergic system in some physiological behaviors such as food intake is mediated by diminishing of the relative mRNA expression of GAD1 and GAD2.

Keywords: Glutamic acid decarboxylase, Intracerebroventricular injection, L-arginine, Neonatal chicken

Please cite this article as follows:
Mokhtarpouriani K, Zendehdel M, Jonaidi H, Shayan P, Babapour V, Razavi-Fard SS, The effect of intracerebroventricular injection of L-arginine on relative expression of mRNA of glutamic acid decarboxylase 1 and 2 (GAD1 and GAD2) genes in brain stem of neonatal chicken. ***Iran J Physiol Pharmacol*** 1 (2017) 90-97.

*Corresponding author e-mail: zendedel@ut.ac.ir
Available online at: http://ijpp.phypha.ir
E-mail: ijpp@phypha.ir